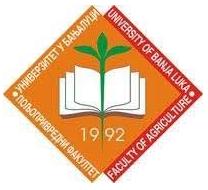




UNIVERZITET U BANJOJ LUCI
POLJOPRIVREDNI FAKULTET



Mirela Kajkut Zeljković

Karakterizacija germplazme kruške (*Pyrus communis* L.) u Bosni i Hercegovini

DOKTORSKA DISERTACIJA

Banja Luka, 2019.



UNIVERSITY OF BANJA LUKA
FACULTY OF AGRICULTURE



Mirela Kajkut Zeljković

Characterization of pear germplasm (*Pyrus communis* L.) in Bosnia and Herzegovina

DOCTORAL DISSERTATION

Banja Luka, 2019.

Strana sa informacijama o mentoru i disertaciji

Mentor:

Prof. dr Gordana Đurić, redovni profesor, Univerzitet u Banjoj Luci, Poljoprivredni fakultet

Naslov doktorske disertacije: Karakterizacija germplazme kruške (*Pyrus communis L.*) u Bosni i Hercegovini

Rezime

U ovom istraživanju izvršene su molekularne analize upotrebom SSR markera kod ukupno 74 prinove kruške od čega je 67 iz BiH kolekcije kruške a 7 genotipova su referentne sorte iz SLU Balsgård *ex situ* kolekcije. Na prinovama iz BiH kolekcije kruške izvršene su i morfo-pomološke analize. Poređenje dobijenih SSR podataka sa drugim bazama podataka izvršeno je u cilju utvrđivanja unikatnosti prinova u BiH kolekciji kruške. Dobijeni rezultati za morfo-pomološke i molekularne karakteristike, pokazale su visok nivo polimorfizma. Molekularnom karakterizacijom identifikovano je 6 grupa prinova koje su imale isti koeficijent sličnosti (1,0). Tri grupe prinova (3x2 prinove) predstavljaju duplike a tri sinonime (2x2 prinove; 1x3 prinove). Takođe, identifikovano je 7 homonima. Poređenjem morfo-pomoloških i molekularnih karakteristika, samo jedna grupa duplikatnih prinova je imala iste morfo-pomološke i molekularne karakteristike PKB-K41 (Duplagica) – PKB-K-143 (Duplagica). Ostale prinove su bile raspoređene po različitim grupama i nije postojala kompatibilnost između njih. Poređenjem dobijenih podataka sa drugim bazama podataka, dobijeni su rezultati koji pokazuju visok stepen unikatnosti BiH germplazme kruške koja može biti korišćena za direktnu upotrebu i za oplemenjivačke programe.

Ključne riječi: poljska banka gena, SSR markeri, duplikati, sinonimi, homonimi.

Naučna oblast: Poljoprivredne nauke

Naučno polje: Poljoprivredne biljne nauke - hortikultura; Ostale poljoprivredne nauke – očuvanje genetičkih resursa

Klasifikaciona oznaka: B 390; B 225

Tip odabrane licence Kreativne zajednice: Autorstvo - nekomercijalno (CC BY-NC)

UDK 634.13-157.6(497.6): [631.51:635.67-152.7(043.3)

Page with information about the mentor and dissertation

Mentor:

Prof. Dr. Gordana Đurić, full professor at University of Banja Luka Faculty of Agriculture

Title of the doctoral dissertation: Characterization of pear germplasm (*Pyrus communis* L.) in Bosnia and Herzegovina

Summary

In this research, molecular analyzes were performed by using SSR markers for total 74 pear accessions of which 67 were from the BIH pear collection and 7 genotypes of references varieties from SLU Balsgård *ex situ* collection. BIH pear accessions were subject of morpho-pomological analysis. Comparison of the obtained SSR data with another data base was done in order to confirm unique accessions in the BIH pear collection. The results obtained for both morpho-pomological and molecular characteristics showed a high level of polymorphism. By molecular characterisation 6 groups of accessions were identified with the same coefficient of similarity (1.0). Three of them (3x2 accessions) represent duplicates and 3 represent synonyms (2x2 accessions; 1x3 accessions). Also, seven homonyms were identified. By comparing morpho-pomological and molecular characteristics, just one group of duplicates had the same molecular and morpho-pomological characteristics, PKB-K-41 (Duplagica) – PKB-K-143 (Duplagica). The other accessions were separated into different groups and there was no compatibility between them. By comparing the obtained data with the other data bases, obtained results showed high presence of uniqueness of BIH pear germplasm that could be used for direct use and breeding programs.

Key words: field gene bank, SSR markers, duplicates, synonyms, homonyms.

Scientific area: Agricultural sciences

Scientific field: Agricultural plant sciences - Horticulture; Other agricultural sciences - Genetic resources conservation

Classification coding: B 390; B 225

Type of selected license Creative Commons: Authorship – non-commercial (CC BY-NC)

UDK 634.13-157.6(497.6): [631.51:635.67-152.7(043.3)]

Zahvalnica

Ovo istraživanje je podržano od strane Ministarstva za naučnotehnološki razvoj, visoko obrazovanje i informaciono društvo Vlade Republike Srpske kroz projekat „Uvođenje procedura sanitacije i sertifikacije sadnog materijala autohtonih sorti voćaka” grant broj: 19/6-020/964-47-3/13.

Moj prvi korak u svijet nauke počeo je prije deset godina, kada me je moj mentor prof. dr Gordana Đurić pozvala i saopštila da je vrijeme da odem u inostranstvo i naučim više o molekularnim markerima. Otišla sam u NordGen u Alnarpu, na Švedski univerzitet poljoprivrednih nauka (SLU), Odjeljenje za oplemenjivanje biljaka, gdje sam prošla obuku za primjenu molekularnih markera u banci gena. Poslije toga, počela sam da radim na molekularnim markerima u Institutu za genetičke resurse. Dio ove doktorske disertacije (molekularna karakterizacija prinova kruške pomoću SSR markera) urađen je u Odjeljenju za oplemenjivanje biljaka u SLU. Kroz ovo desetogodišnje putovanje, moj mentor, prof. dr Gordana Đurić mi je pružila mnoga znanja u različitim aspektima naučnog rada, rada sa studentima i nastavom. Draga profesorice Đurić, hvala Vam na svim savjetima, velikoj podršci koju ste mi pružali na svakom novom koraku kako profesionalnom tako i životnom. Čast mi je što sam Vaš student i saradnik.

Iskrenu zahvalnost dugujem prof. dr Nikoli Mićiću koji me je naučio kako da napišem svoj prvi rad kao i za svo znanje koje je podijelio sa mnom tokom zajedničkog rada u laboratoriji.

Želim da izrazim iskrenu zahvalnost prof. dr Larisi Gustavson koja mi je pružila priliku da radim sa njom, kao i za sve savjete i sugestije tokom izrade ovog rada. Takođe, želim da se zahvalim na gostoprivrstvu i podršci koju mi je pružila tokom mog boravka u Odjeljenju za oplemenjivanje biljaka SLU. Zahvalna sam svim zaposlenim navedenog odjeljenja, a posebno dr Jasni Sehic, dr Firuzu Odilbekovu i dr Hele Tureson.

Želim da se zahvalim članovima komisije za odbranu disertacije, prof. dr Henriku Flahovskom, prof. dr Sonji Ivanovskoj i prof. dr Borisu Pašaliću, na konstruktivnim prijedlozima i pomoći prilikom pisanja ove disertacije.

Veoma sam zahvalna prof. dr Fuadu Gašiju za pomoć koju mi je pružio prilikom tumačenja rezultata molekularnih analiza i što je podijelio svoje podatke sa mnom. Takođe, zahvalnost dugujem dr Metju Orđidižu na pomoći i dijeljenju SSR podataka iz Brogdejl kolekcije (Velika Britanija) u cilju poređenja sa dobijenim podacima u ovoj disertaciji.

Veliku zahvalnost dugujem kolegama iz Instituta za genetičke resurse na pomoći i podršci

u svim koracima mog istraživanja. Hvala: Nato, Maki, Sanda, Suno, Zlaja, Nidžo, Sonja, Jelo, Biljo i Peđa. Želim da se zahvalim Borutu Bosančiću za pomoć i strpljenje tokom biometričkih analiza i Jeleni Davidović Gidas za nesebičnu podršku i razumjevanje.

Najveća podrška mi je bila moja porodica. Bez ljubavi, hrabrosti, pozitivne energije i posvećenosti moje drage majke Ljubinke, ja danas ne bih bila ovdje. Zahvalna sam ocu Dragi na podršci i ljubavi koju mi je pružao, dok je bio sa nama. Mnogo zahvalnosti dugujem bratu Marku zato što je vjerovao u mene. Najdublje se zahvaljujem mom Miroslavu koji je vjerovao u mene i koji mi je pružao podršku i savjete tokom pripreme ove disertacije.

Na kraju, želim da se zahvalim mom dragom suprugu Banetu. Zahvalna sam za svu podršku i razumjevanje, ali u isto vrijeme želim da se izvinim zbog propuštenih porodičnih trenutaka tokom posljednjih godina. Bez njegove podrške, ljubavi i strpljenja ovaj put bi trajao mnogo duže. Hvala ti što dijeliš život sa mnom.

Mom najdražem Banetu...

Lista skraćenica

ACLSV – Virus hlorotične lisne pjegavosti

AFLP – Polimorfizam dužine umnoženih fragmenata

ApMV – Virus mozaika jabuke

ASGV – Virus brazdavosti stabla jabuke

ASPV – Virus jamičavosti stabla jabuke

BGR – Biljni genetički resursi

BIH – Bosna i Hercegovina

BIH pear collection - *Ex situ* kolekcija kruške Instituta za genetičke resurse

bp – bazni par (engl. base pair)

°Brix – Stepeni Brix (simbol °Bx), ukupan sadržaj rastvorljive suve materije u čelijskom soku mesa ploda

CBD – Konvencija o biološkoj raznovrsnosti

DNK – Dezoksiribonukleinska kiselina

dNTP – Nukleozid trifosfat

EcoRI – enzim restrikcione endonukleaze izolovan iz vrste *Escherichia coli*

ECPGR – Evropski program saradnje za biljne genetičke resurse

EUCARPIA – Evropska asocijacija za istraživanje u oblasti oplemenjivanja biljaka

FAO – Organizacija za hranu i poljoprivredu Ujedinjenih nacija

F_{IT} – Vrijednost inbriding koeficijenta

F_{IS} – Wright-ov koeficijent inbridinga

FST – Fiksacijski indeks

GPA – Globalni akcioni plan

He – Očekivana heterozigotnost

Ho – Dobijena heterozigotnost

I – Shannon-ov indeks

IARCs – Međunarodni poljoprivredni istraživački centri

IBPGR – Međunarodni odbor za biljne genetičke resurse

IPGRI – Međunarodni Institut za biljne genetičke resurse

IGRUNIBL – Institut za genetičke resurse Univerziteta u Banjoj Luci

ITPGRFA – Međunarodni sporazum za biljne genetičke resurse za hranu i poljoprivredu

MseI – enzim restrikcione endonukleaza iz *Micrococcus* vrsta

Na – Broj različitih alela

Ne – Broj efektivnih alela

SLU – Švedski univerzitet poljoprivrednih nauka

SSR – Mikrosateliti – ponavljanje jednostavne sekvene

PCoA – Analiza glavnih komponenti

PCR – Lančana reakcija polimerazom

RAPD – Polimorfizam nasumično umnožene DNK

RG – Radna grupa

SIDA – Švedska međunarodna organizacija za razvoj i saradnju

SNP – Polimorfizam pojedinačnih nukleotida

SFR Yugoslavia – Socijalistička Federativna Republika Jugoslavija

SM koeficijent – Jednostavni koeficijent podudaranja

TBE buffer – Tris/Borat/EDTA pufer

UNDP – Razvojni program Ujedinjenih nacija

UPOV – Međunarodna unija za zaštitu novih biljnih sorti

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. PREGLED LITERATURE.....	2
2.1 BGR za hranu i poljoprivredu.....	2
2.2 Genetički resursi kruške u BiH.....	4
2.3 Molekularni markeri za identifikaciju germplazme.....	6
2.3.1 Polimorfizam nasumično umnožene DNK - RAPD marker.....	7
2.3.2 Polimorfizam dužine umnoženih fragmenata - AFLP markeri.....	8
2.3.3 Mikrosateliti – ponavljanje jednostavne sekvance - SSR markeri...	9
2.3.4 Polimorfizam pojedinačnih nukleotida - SNP markeri.....	9
2.4 Primjena molekularnih markera za utvrđivanje genetičkog diverziteta kruške.....	10
2.5 Morfo-pomološka karakterizacija germplazme kruške.....	12
3. CILJ ISTRAŽIVANJA.....	15
4. RADNA HIPOTEZA.....	16
5. MATERIJAL I METODE.....	17
5.1 Materijal.....	17
5.2 Metode.....	19
5.2.1 Molekularna karakterizacija prinova kruške primjenom SSR markera.....	19
5.2.1.1 DNK ekstrakcija.....	19
5.2.1.2 Kvantifikacija DNK uzorka.....	19
5.2.1.3 PCR amplifikacija.....	19
5.2.2 Morfo-pomološka karakterizacija prinova kruške u BiH kolekciji.....	20
5.2.2.1 Fenološko praćenje prinova kruške.....	20
5.2.2.2 Morfo-pomološka karakterizacija BiH prinova kruške.....	21
5.2.3 Morfološka analiza lista kruške.....	21
5.2.4 Biometrijske analize.....	22
6. REZULTATI I DISKUSIJA.....	23
6.1 Molekularna analiza genetičke raznovrsnosti germplazme kruške primjenom SSR markera.....	23
6.1.1 Raznovrsnost i srodnost.....	23
6.1.2 Analiza frekvencije alela.....	25
6.1.3 Genetička diferencijacija BiH prinova i referentnih sorti kruške....	25

6.1.4 Genetička sličnost.....	26
6.1.5 Analiza molekularnih karakteristika BiH germplazme kruške.....	29
6.1.6 Poređenje SSR podataka dobijenih za BiH germplazmu kruške sa drugim bazama podataka.....	30
6.2 Morfološke karakteristike BiH prinova kruške.....	31
6.2.1 Habitus stabla.....	31
6.2.2 Morfološke karakteristike lista.....	32
6.2.3 Cvjetanje.....	35
6.2.4 Plodonošenje.....	38
6.2.5 Cvjetanje i plodonošenje.....	39
6.3 Morfo-pomološke karakteristike ploda BiH prinova kruške.....	40
6.3.1 Osnovna i dopunska boja ploda, prisustvo rde na pokožici ploda...	40
6.3.2 Peteljka ploda i peteljkino udubljenje.....	42
6.3.3 Relativna veličina ploda.....	43
6.3.4 Sadržaj rastvorljive suve materije u čelijskom soku mesa ploda....	45
6.3.5 Tvrdoća mesa ploda.....	45
6.4 Analiza morfo-pomoloških karakteristika BiH prinova kruške.....	52
6.5 Poređenje morfo-pomoloških i molekularnih karakteristika duplikata i sinonima.....	54
7. ZAKLJUČCI.....	56
8. LITERATURA.....	57

1. UVOD

Rast populacije, urbanizacija i klimatske promjene utiču na gubitak biljnih genetičkih resursa (BGR), koji je povećan posljednjih decenija, što negativno utiče na svjetsku sigurnost hrane. Očuvanje BGR-a i njihova održiva upotreba važne su obaveze svakog društva. Klimatske promjene sve više utiču na smanjenje biodiverziteta, čime se povećava i genetička erozija. Gubitak gena u poljoprivredi odražava se direktno na proizvodnju hrane, a kao rezultat toga dolazi do smanjenja kvaliteta i prinosa, te ponude proizvoda na tržištu.

BGR predstavljaju genetičku osnovu i izvor gena za unaprjeđenje biljaka. BGR takođe predstavljaju jednu od najvažnijih komponenti prirodnih resursa i osnovu poljoprivrednog razvoja sa ciljem povećanja proizvodnje hrane kao i njenog kvaliteta i raznovrsnosti. Očuvanje i održiva upotreba BGR-a imaju važnu ulogu u njihovom spašavanju od genetičke erozije, očuvanju i korišćenju širokog spektra raznovrsnosti među vrstama i unutar vrsta, čime se osigurava hrana za buduće generacije.

Balkansko poluostrvo kao i Bosna i Hercegovina (BiH) su veoma bogate sa BGR-om, pogotovo sa genetičkim resursima voćaka. Njihov značaj u globalnom sigurnosnom sistemu hrane je prepoznat, ali je neophodno još mnogo posla da se uradi na njihovom očuvanju i održivoj upotrebi. Aktivnosti na inventarisanju i kolekcionisanju su izvršene skoro u čitavoj BiH, ali karakterizacija i upotreba kolekcionisanog materijala nije izvršena za sve vrste. Genetički resursi kruške su prisutni u BiH već vijekovima. Veći dio njih je prenošen iz mjesta u mjesto sa ciljem da se ova voćna vrsta proširi zbog dobrih karakteristika ploda. Tradicionalne sorte kruške su uglavnom prisutne na okućnicama, ali u nekoliko posljednjih decenija su zamijenjene novim komercijalnim sortama. Utvrđivanje morfo-pomoških karakteristika i genetičkog diverziteta germplazme kruške ima veliki značaj za njeno očuvanje i održivu upotrebu. Germplazma kruške je u banci gena konzervisana u *ex situ* poljskoj kolekciji voćaka. U okviru očuvanja, glavne aktivnosti su utvrđivanje fenoloških, pomoloških i morfoloških karakteristika. Nivo genetičke sličnosti, duplikati u *ex situ* kolekciji i pogrešno označavanje mogu biti utvrđeni primjenom molekularnih markera. Primjenom ove tehnike karakterizacije, germplazma kruške je identifikovana i kao rezultat ovog istraživanja biće utvrđeni novi potencijalni donori za oplemenjivačke programe ili novi genotipovi. Ovo istraživanje će doprinijeti zaštiti i održivoj upotrebi genetičkih resursa kruške u BiH.

2. PREGLED LITERATURE

2.1 BGR za hranu i poljoprivredu

BGR predstavljaju materijal od stvarne i potencijalne vrijednosti sa funkcionalnim jedinicama nasljeđivanja (Konvencija o biološkoj raznovrsnosti (engl. Convention on biological diversity – CBD, 1992). Vrijednost i značaj BGR-a za održivu proizvodnju hrane bila je prepoznata još početkom dvadesetog vijeka. Prve kolekcione misije su sprovedene od strane Nikolaja Ivanoviča Vavilova i Henrika Van Harlana (Loskutov, 1999). Njihovi osnovni ciljevi su bili: pronalazak, inventarizacija, konzervacija i upotreba BGR-a za istraživačke i oplemenjivačke programe. Preko 50 zemalja širom: Azije, Amerike, Sjeverne Afrike i Evrope bile su na mapi kolekcionih ekspedicija između 1920. i 1930. godine. U ranim 1930-im tradicionalne sorte i adaptirane autohtone populacije su počele da se zamjenjuju novim, unaprijeđenim sortama. To je bio prvi alarm o potrebi konzervacije genetičkih resursa (Harlan i Martini, 1936).

Sistemski pristup konzervaciji germplazme je iniciran u Njemačkoj sredinom dvadesetog vijeka, a kasnije u zapadno-evropskim zemljama. Prepoznajući značaj BGR-a kako bi se obezbijedila sigurnost hrane za svjetsku populaciju, prve *ex situ* kolekcije promovisane su od strane međunarodnih organizacija 1970-tih godina, posebno od strane: Organizacije za hranu i poljoprivredu (engl. Food and Agricultural Organization - FAO), Međunarodnog odbora za biljne genetičke resurse (engl. International Board for Plant Genetic Resources - IBPGR) i Međunarodnog instituta za biljne genetičke resurse (engl. International Plant Genetic Resources Institute - IPGRI). Posljednje dvije organizacije su prethodnice današnjeg Međunarodnog biodiverziteta (engl. Bioversity International). U tom periodu uspostavljene su međunarodne banke gena pri Međunarodnom centru za istraživanja u poljoprivredi (engl. International Agricultural Research Centres - IARCs).

Komisija za BGR je uspostavljena 1983. godine u okviru FAO-a. Mandat komisije je proširen na FAO konferenciji održanoj 1995. godine kako bi se obuhvatile sve komponente biodiverziteta: biljni, životinjski, šumski, vodeni i resursi mikroorganizama i beskičmenjaka. Takođe, 1980. godine na inicijativu Razvojnog programa Ujedinjenih nacija (engl. United Nations Development Programme - UNDP), FAO-a, i Evropske asocijacije za istraživanje oplemenjivanja biljaka (engl. European Association for Research on Plant Breeding (EUCARPIA) (<https://www.eucarpia.org/>) uspostavljen je Evropski program saradnje za BGR-om (engl. European Cooperative Programme for Plant Genetic Resources - ECPGR) (<http://www.ecpgr.cgiar.org/>). ECPGR je program evropske saradnje za BGR-om sa ciljem da se omogući dugoročno očuvanje i poveća upotreba

BGR-a širom Evrope. Značaj BGR-a je prepoznat na međunarodnom nivou i pronašao je svoje mjesto u zakonodavnom okviru. CBD je usvojena 1992. godine i uspostavljeni su sljedeći ciljevi: očuvanje biodiverziteta, održivo korišćenje njihovih komponenata i fer i ravnomjerna raspodjela dobiti koja proizilazi iz upotrebe genetičkih resursa. Prije usvajanja CBD-a, BGR nisu bile u nadležnosti država, a zahvaljujući ovoj konvenciji, svaka zemlja je dobila nadležnost nad svojim BGR-om. Osnovni međunarodni pravni i politički okvir za oblast BGR-a je Međunarodni sporazum o biljnim genetičkim resursima za hranu i poljoprivredu (engl. International Treaty on Plant Genetic Resources for Food and Agriculture – ITPGRFA <http://www.fao.org/plant-treaty/en/>), kao i FAO Globalni akcioni plan za očuvanje i održivu upotrebu biljnih genetičkih resursa za hranu i poljoprivredu (engl. FAO Global Plan of Action for Conservation and Sustainable Use of Plant Genetic Resources for Food and Agriculture – GPA). GPA je u skladu sa Agendom 21. Međunarodnog sporazuma o biljnim genetičkim resursima za hranu i poljoprivredu koji je usvojen 2001. godine, kroz rezoluciju 3/2001, kao pravni sporazum koji obuhvata sve značajne BGR neophodne za poljoprivredu. Pored prava farmera, centralna komponenta ugovora je multilateralni sistem pristupa genetičkim resursima i raspodjeli koristi koja proističe iz njihovog korišćenja. ITPGRFA je stupio na snagu 2004. godine. Nakon ITPGRFA, Nagoja protokol o pristupu genetičkim resursima i fer i ravnomjernoj raspodjeli dobiti koja proističe iz njihove upotrebe, usvojen je kao dopunski sporazum za CBD-om. On pruža transparentan pravni okvir za efektivnu implementaciju jednog od tri cilja CBD-a, naime fer i ravnomjernu raspodjelu dobiti koja proističe iz korišćenja genetičkih resursa. Protokol iz Nagoje je usvojen 29. oktobra 2010. godine u Nagoj (Japan), a stupio je na snagu 12. oktobra 2014. godine. Njegov cilj je ravnomjerna i fer raspodjela dobiti koja proističe iz korišćenja genetičkih resursa, čime se doprinosi očuvanju i održivom korišćenju biološke raznovrsnosti (<https://www.cbd.int/abs/about/>). Aktivnosti na očuvanju i karakterizaciji BGR-a su veoma važne. Očuvanje BGR-a kroz *ex situ* očuvanje je najvažnija i najsnažnija akcija. *Ex situ* očuvanje je očuvanje komponenti biološke raznovrsnosti izvan njihovih prirodnih staništa. To uključuje: generativne i vegetativne biljne dijelove, organe ili organizme, npr. sjemenke, polen, gomolje, krtole, dijelove stabala vegetativno razmnoženih biljaka, reznice i *in vitro* kulture. Biljne populacije su djelimično konzervisane u *ex situ* poljskim kolekcijama (voćke u poljskim kolekcijama banaka gena i botaničke bašte). Ovo bi trebalo da poveća vrijednost lokalnom BGR-u putem poboljšane karakterizacije, poboljšanog oplemenjivanja, podizanjem javne svijesti o važnosti BGR-a i uspostavljanjem programa podrške i podsticajnih mjera. Sve aktivnosti moraju biti usmjerenе tako da obezbijede ciljane aktivnosti na očuvanju (FAO, 2019).

2.2 Genetički resursi kruške u BiH

Balkansko poluostrvo je izuzetno bogato genetičkim resursima voćaka što potvrđuju brojna istraživanja koja su provedena do sada. Germplazma kruške je posebno prepoznata od strane istraživača jer su inventarizacija i kolekcionisanje prinova kruške vršeni u periodu između 1976.-1980. godine na području Jugoslavije i Rumunije u cilju obezbjeđenja germplazme za oplemenjivačke programe (Zwet et al., 1983). Veliki broj starih sorti krušaka je prisutan na našim prostorima. Čestim seobama stanovništva i ratovima, materijal je prenošen iz mjesta u mjesto. Beširević (2009) navodi da nazivi sorti nisu jedinstveni i da se razlikuju od mjesta do mjesta, a nazivi su dodjeljivani na različitim osnovama. Tako na primjer, imena su dodjeljivana po karakterističnim osobinama sorte (Okrugljača, Durgulja, Zelenika, Žutica, Mirisavka, Mednica itd.), po porijeklu, tj. odakle je donesena (Budimka, Sarajka), po imenima ljudi koji su učestvovali u njenom prihvatanju i širenju (Huseinbegovača, Ramićka, Hasanagićka). Prvi pisani podaci o gajenju voćaka na području Republike Srpske i BiH potiču iz perioda Otomanske carevine, ali su prvi popis i statistika u voćarstvu urađeni u vrijeme Austro-Ugarske carevine, u periodu od 1882. do 1896. godine (Bubić, - vidi kod Đurić et al., 2009b). Republika Srpska, kao dio BiH iako ima različite klimatske uslove, odlikuje se bogatom germplazmom voćaka. Čestim migracijama stanovništva, a i uticajima različitih civilizacija introdukovana je strana germplazma koja je učestvovala u stvaranju novih genotipova i sorti, planskom ili spontanom hibridizacijom. Bez obzira na ove konstatacije, istraživanje germplazme voćaka bilo je predmet malog broja ekspedicija tokom prethodnog perioda (Đurić i sar., 2009a). U periodu od 1976. do 1980. izvršeno je kolekcionisanje 127 autohtonih sorti krušaka (255 prinova) s prostora: Srbije, Kosova i Metohije, Makedonije, Crne Gore i BiH. Proučavanje i kolekcionisanje je obavio T. van der Zwet, fitopatolog, u periodu od 14. jula do 23. septembra, 1978. godine. Pored naše zemlje, vršio je kolekcionisanje u: Rumuniji, Poljskoj, Bugarskoj, Mađarskoj i Turskoj. Ukupno je prikupio 279 sorti krušaka i prirodnih hibrida međuvrsnih ukrštanja (*Pyrus amygdaliformis* × *Pyrus communis*). Ovaj hibrid je pronađen u Institutu za voćarstvo u Čačaku i još dva slična na jugu Makedonije. T. van der Zwet navodi da je Jugoslavija najbogatija zemlja u germplazmi krušaka (Zwet, vidi Paunović 1991). Najveće istraživanje provedeno je tokom perioda 1989-1991. godine kroz program Banka biljnih gena Jugoslavije (Đurić et al., 2009b). Paunović u svom izvještaju o aktivnostima na formiranju Banke gena voćaka Jugoslavije (1991) navodi da je 1990-te u SFR Jugoslaviji bilo ukupno 173 091 000 stabala voćaka ili zasada voćaka na površini od oko 498 000 ha. Prema statističkim podacima od ukupne površine pod voćnjacima BiH je imala 1 908 ha (Paunović, 1991). Isto tako, Paunović

(1991) navodi da je bivša Jugoslavija zemlja sa gen-centrom brojnih vrsta voćaka (*Malus sylvestris* Mill., *Pyrus communis* L., *Pyrus amygdaliformis* Vill., *Prunus domestica* L., *Prunus insititia* L., *Prunus cerasifera* Ehrh i dr.). U svojoj podjeli orijentacionih gen-centara divljih vrsta i srodnika gajenih biljaka Paunović smatra da je prostor Jugoslavije sa: Srbijom, BiH, Crnom Gorom i Hrvatskom, gen-centar za vrstu *Pyrus communis* L. Sistemskim istraživanjima germplazme kruške u BiH, Makedoniji i Srbiji otkrivena je značajna genetička varijacija. Preko 2 000 stabala kruške je evaluirano u *in situ* uslovima pri čemu je kolekcionisano 38 lokalnih sorti i 32 genotipa nepoznatog imena. Na kolekcionisanim prinovama izvršena je karakterizacija. Period dozrijevanja navedenih prinova bio je od kraja juna do kraja oktobra. Veličina ploda je varirala od veoma male do velike, s tim da je kvalitet ploda za konzumaciju bio osrednji do loš, a zabilježeno je prisustvo velikog broja kamenih ćelija. Plodovi su uglavnom korišćeni za sušenje i pripremu rakije. Evaluacija na otpornost na bolesti i štetočine vršena je samo u *in situ* uslovima pri čemu je zabilježena pojava *Venturia pirina* Adelh., *Psylla piricola* Foerster, a samo jedna prnova po imenu Žutica je bila bez simptoma prisustva navedenih patogena (Vujanić-Varga et al., 1994).

Ponovne aktivnosti na očuvanju BGR-a započete su kroz projekat Razvojna mreža jugoistočne Evrope koji je bio podržan od strane Švedske međunarodne agencije za razvoj i saradnju (SIDA) 2004. godine. Takođe, kroz realizaciju ovog projekta započeta je inventarizacija teritorije Republike Srpske sa ciljem utvrđivanja prisutnog genofonda. Navedeni projekat je bio i osnova za uspostavljanje Programa očuvanja biljnih genetičkih resursa Republike Srpske, kojeg je usvojila Narodna skupština Republike Srpske (Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede Republike Srpske, 2009), a kao koordinatorska institucija uspostavljen je Institut za genetičke resurse kao organizaciona jedinica Univerziteta u Banjoj Luci (IGRUNIBL). Aktivnosti Programa se realizuju kroz šest radnih grupa (RG): RG1 za žitarice i kukuruz, RG2 za voćke i vinovu lozu, RG3 za povrće, RG4 za krmne biljke, RG5 za ljekovite i aromatične biljke i RG6 za industrijsko bilje. RG za voćke i vinovu lozu ima nekoliko ciljeva od kojih su najvažniji inventarizacija, kolekcionisanje i održivo korišćenje autohtonih sorti voćaka i vinove loze, te podizanje svijesti o značaju genetičkih resursa voćaka. Inventarizacijom se utvrđuje prisutnost germplazme na određenoj teritoriji pri čemu se vrši i kolekcionisanje voćnih vrsta u cilju *ex situ* konzervacije i karakterizacije. Utvrđivanje karakteristika i svojstava prinova sa morfološkog, fenološkog, biohemijskog i molekularnog stanovišta omogućen je kroz proces karakterizacije (Program očuvanja biljnih genetičkih resursa Republike Srpske, 2009).

Očuvanje BGR-a uključuje: inventarizaciju, kolekcionisanje, karakterizaciju i aktivnosti očuvanja. Sistematskim istraživanjem germplazme na teritoriji Republike Srpske i BiH prikupljen je veliki broj krušaka, koje su smještene u kolekciju voćaka IGRUNIBL. Određivanje identiteta sorti i njihovih morfo-pomoloških i fenoloških karakteristika kao i karakteristika ploda od velikog su značaja.

2.3 Molekularni markeri za identifikaciju germplazme

Morfološke karakteristike sorti predstavljaju osnovu za identifikaciju, ali i njihovu genetsku strukturu koja je neophodna u procesu identifikacije. Prisustvo sinonima (istih genotipova pod različitim nazivima) i homonima (različiti genotipovi pod istim imenom) unutar germplazme otežava proces kolekcionisanja (Gašić et al., 2013b). Nepravilno označavanje je takođe čest problem u kolekcijama germplazme (Puskás et al., 2015).

Prije uvođenja molekularnih markera, morfološki markeri bili su glavni alat za identifikaciju germplazme. Morfološki markeri nisu dovoljno tačni za određivanje karakteristika sorti uzimajući u obzir da su pod uticajem faktora spoljne sredine, te stoga nisu dovoljno pouzdani za identifikaciju. Razvoj molekularnih tehnika značajno je poboljšao mogućnosti identifikacije i karakterizacije BGR-a, jer na njih ne utiče fenotipska varijacija uzrokovana adaptacijom na određene faktore spoljne sredine (Gašić et al., 2013b).

Tokom čitave istorije civilizacije ljudi su pokušavali da manipulišu prirodnim procesima i da ih prilagode svojim potrebama. Razvoj bioloških nauka u drugoj polovini 20. vijeka doveo je do definisanja metoda za genetičko unapređenje. Utvrđeno je da molekularni markeri igraju važnu ulogu u genetičkom poboljšanju raspoložive germplazme. Upotreba molekularnih markera omogućila je istraživanje u cilju razumijevanja razvojnih i evolucijskih procesa na molekularnom nivou (Weising et al., 2005). Molekularni markeri postali su nezamjenljiv alat u identifikaciji BGR-a. Nužnost identifikacije genetičkih profila u BiH kolekciji nastala je iz razloga što su Balkan i BiH bili izloženi čestim migracijama stanovništva koje je sa sobom nosilo kalem grančice i sjemena čime su uvedene nove germplazme, te su stvoreni novi genotipovi koji se tek trebaju opisati na molekularnom nivou (Đurić et al., 2009b). Danas, u kolekcijama voćaka koje nisu bile podvrgnute molekularnoj analizi, mogu se naći duplikatne prinove pod istim ili kao sinonimi pod različitim imenima. Iz tog razloga, primjena molekularnih markera za karakterizaciju germplazme je od velike važnosti, jer utvrđivanje duplikata i utvrđivanje uzorka genetičke povezanosti pružaju vrijedne i jasne informacije o germplazmi koja je sačuvana u kolekcijama.

Molekularni markeri su fragmenti DNK koji se koriste za molekularno profilisanje i mapiranje gena, što podrazumijeva niz mjera i procedura koje identificuju sve gene jednog organizma kako bi se odredile njegove nukleotidne sekvene tj. lokacije na hromozomima. Mapiranje lokusa/gena može se vršiti na različitim tipovima germplazme uključujući materijal za oplemenjivanje i kolekcije germplazme (Grover i Sharma, 2016; Nadeem et al., 2017). Važne karakteristike za dobre molekularne markere su sljedeće: srednji do visoki polimorfizam, kodominantno nasljeđivanje, lak i brz pristup, visoka reproduktivnost, laka razmjena podataka između laboratorija i relativno niska cijena (Weising et al., 2005). Prilikom odabira tipa molekularnih markera, prvo je važno definisati informacije koje se traže i odabrati markere koji mogu utvrditi varijacije unutar populacije, između vrsta i između rodova. Takođe, metoda mora biti dovoljno informativna za utvrđivanje nivoa polimorfizma (postojanje dva ili više alelnih oblika gena u određenoj populaciji). U tom slučaju postoje dvije alternative: ili primjena većeg broja markera koji imaju nizak stepen polimorfizma ili mali broj markera s visokim stepenom polimorfizma (Al-Samarai i Al-Kazaz, 2015).

Da bi se dobile informacije o specifičnim molekularnim lokusima/alelima, potrebno je izolovati DNK, odrediti njen kvalitet i koncentraciju, izvršiti amplifikaciju i vizuelizaciju PCR proizvoda. Molekularni markeri koji se primjenjuju su: Polimorfizam nasumično umnožene DNK, (engl. Random Amplification of Polymorphic DNA - RAPD), Polimorfizam dužine umnoženih fragmenata (engl. Amplifies Fragment Length Polymorphism - AFLP), Mikrosateliti-ponavljanje jednostavne sekvene (engl. Simple Sequence Repeat, - SSR) i Polimorfizam pojedinačnih nukleotida (Single Nucleotide Polymorphism SNP) (Weising et al., 2005; Al-Samarai i Al-Kazaz, 2015; Nadeem et al., 2017).

2.3.1 Polimorfizam nasumično umnožene DNK - RAPD markeri

RAPD markeri su razvijeni krajem 1990-ih od strane Williams et al. (1990), kao dio dominantne grupe markera. Oni se zasnivaju na PCR-u (engl. Polymerase Chain Reaction) tj. umnožavanju DNK molekula pomoću kratkih oligonukleotidnih prajmera dužine od 8-10 nukleotida (Williams et al., 1990) i 18-24 nukleotida (Welsh i McClelland, 1990). RAPD metoda je karakteristična u pogledu upotrebe pojedinačnih prajmera (engl. primer – nukleinsko kiselinski lanac koji služi kao početna tačka za DNK sintezu), tako da se u prvom ciklusu umnožavanja sintetišu fragmenti bazirani na samo jednom lancu dvolančanih molekula DNK. U drugom PCR ciklusu, isti prajmer mora pronaći palindrom svoje sekvene na novo stvorenom lancu kako bi započeo sintezu novog lanca u suprotnom smjeru. Upotrebom velikog broja slučajno odabralih prajmera, umnoženi fragmenti različitih dužina nastaju kao PCR

produkt i razdvajaju se elektroforezom u gelu. Prednost RAPD markera leži u tome što njihova primjena ne zahtijeva znanje o sekvencama ili lokusima istraživanog genoma; ona je relativno brza, jeftinija od ostalih i ne primjenjuje radioaktivne probe. Nedostaci ove metode su: visoka osjetljivost na eksperimentalne uslove, kontaminacija i česta nespecifična pojačanja, te nemogućnost upotrebe za populacionu genetiku i mapiranje (Weising et al., 2005). RAPD markeri su korišćeni za procjenu raznovrsnosti i srodnosti kod mnogih vrsta, kao što su: jabuka (Garkava-Gustavsson i Nybom, 2007), kruška (Kajkut et al., 2015), šljiva (Liu et al., 2007), trešnja (Demirsoy et al., 2008), kukuruz (Carvalho et al., 2004), raž (Petrovičová et al., 2015) i pšenica (Eid, 2019). Iako rijetko, oni su još uvijek u upotrebi, a uglavnom su zamijenjeni jačim i informativnijim markerima.

2.3.2 Polimorfizam dužine umnoženih fragmenata - AFLP markeri

AFLP markeri su razvili Zabeu i Vos (1993) i Vos et al. (1995). Ovaj tip markera pripada grupi dominantnih markera. Ova tehnika uključuje sljedeće faze: restrikcionu digestiju genomske DNK, ligaciju, preamplifikaciju, amplifikaciju i analizu gela. Prva faza AFLP analize je hidroliza genomske DNK sa dva restrikciona enzima koji se razlikuju po broju lokacija koje se prepoznaju na molekuli DNK, prva hidrolizuje DNK na visokoj frekvenciji (MseI koji prepoznaje niz od 4 bazna para), a druga hidrolizuje DNK sa nižom frekvencijom (EcoRI, koji prepoznaje niz od šest baznih parova). Druga faza je povezivanje ili spajanje fragmenata različitih molekularnih težina s adaptivnim molekulima koji imaju specifične krajne sekvene. Treća faza je predselektivna PCR-bazirana amplifikacija uz upotrebu primarnih sekvenci koje su komplementarne adaptivnim sekvencama. Četvrta faza je selektivna amplifikacija upotrebom fluorescentnih ili radioaktivno označenih prajmera. Nakon četvrte faze, amplifikovani fragmenti se razdvajaju na poliakrilamidnom gelu (Weising et al., 2005). Ova tehnika je okarakterisana kao veoma informativna jer je broj dobijenih markera za pojedinačni PCR izuzetno visok. Takođe, može se identifikovati visok nivo polimorfizma. Genomska DNK koja se koristi mora biti najvišeg kvaliteta, jer krajnji rezultat zavisi od njenog kvaliteta. Nedostaci ovog tipa molekularnih markera su: visoki troškovi, dominantna priroda markera i gust kompleks dobijenih bendova koji mogu biti izuzetno teški za očitavanje (Weising et al., 2005; Gašić et al., 2013b). AFLP markeri su korišćeni u mnogim istraživanjima genetičke raznovrsnosti kod: kruške (Wolf et al., 2017), jabuke (Savelyeva i Kudryavtsev, 2015), šljive (Ilginm et al., 2009), pšenice (Sciacca et al., 2010) itd.

2.3.3 Mikrosateliti – ponavljanje jednostavne sekvence - SSR markeri

Molekularni markeri koji su specifikovani kao mikrosateliti često se nazivaju i ponavljanje jednostavne sekvence (SSR) koji su prisutni kod sisara, a njihovo prisustvo u biljkama prvi put je prijavljeno 1991. godine (Condit i Hubbel, 1991). Mikrosateliti su sekvence DNK koje se uglavnom nalaze u nekodirajućim regionima biljnog i životinjskog genoma i sastoje se od jednostavnih, ponavljačih jedinica koje se sastoje od mono-, di-, tri- i rijetko tetra- i pentanukleotida. Oni su dio grupe visoko polimorfnih kodominantnih markera. Polimorfizam mikrosatelitnih markera ogleda se u varijaciji broja ponavljačih jedinica koje se nalaze u određenom mikrosatelitnom lokusu, ili, drugim riječima, dužini određene mikrosatelitne sekvence (alel) (Arif et al., 2010). Detekcija polimorfizma mikrosatelita prisutnih u genomu zasniva se na PCR reakciji i može se koristiti ako postoje specifični prajmeri za nalijeganje na flanking region (sekvence DNK koje se pružaju na bilo koju stranu specifične sekvence) mikrosatelita za bočne krajeve mikrosatelita (Tautz, 1989). Nedostaci SSR markera su: nužnost sinteze prajmera za svaki lokus, koji zahtijeva kloniranje i sekvenciranje klonova koji sadrže mikrosatelite, pojavu „nultog“ alela koji može dovesti do grešaka u procjeni genotipova i pojave „stater“ bendova koji mogu negativno uticati na interpretaciju rezultata (Bhargava i Fuentes, 2010). Međutim, mikrosateliti su markeri sa visokom: varijabilnošću, reproduktivnošću, raznolikošću, specifičnom lokacijom na hromozomima i visoko produktivnom genotipizacijom (Parida et al., 2009). SSR markeri su u širokoj upotrebi za određivanje genetičke raznovrsnosti: kruške (Sehic et al., 2012; Gaši et al., 2013a; Stracieri et al., 2015; Öztürk i Demirsoy, 2016; Sharifani et al., 2017), jabuke (Garkava- Gustavsson et al., 2008; Garkava-Gustavon et al., 2013; Gaši et al., 2013c; Dar et al., 2019), šljive (Makovics-Zsöhár et al., 2017), pšenice (Phoufat et al., 2017) itd. SSR markeri su i danas glavni markeri u upotrebi za BGR je to najefikasnija metoda za određivanje genetičke varijabilnosti, udaljenosti i identifikacije genotipova.

2.3.4 Polimorfizam pojedinačnih nukleotida - SNP markeri

Ova vrsta markera pripada posljednjoj generaciji molekularnih markera. SNP je promjena jedne baze u sekvenci DNK koja se javlja u značajnom procentu velikog broja populacija. Razvijanjem ovih markera, automatizovana je i desetostruko povećana efikasnost analize genotipova. Oni su veoma korisni za kreiranje genetičkih mapa visoke gustoće koje se ne mogu postići drugim markerima. Potencijal da se obezbijedi osnova za superiornu i visoko informativnu analizu genotipizacije je takođe jedna od karakteristika ovih markera. Oni imaju najvišu klasu funkcionalnih polimorfizama. Troškovi i vrijeme trajanja SNP-a značajno su

smanjeni, tako da se sve više primjenjuju (Huq et al., 2016; You et al., 2018). SNP markeri se nalaze na vrlo visokoj frekvenciji u biljnim i životinjskim genomima. Ovaj sistem markera postao je posebno popularan u molekularnoj genetici biljaka zbog njihovog širokog rasprostiranja u genomu i podnošljivosti za visoke do ultra-visoke detektovane platforme (Mammadov et al., 2012; Huq et al., 2016). Prednosti SNP markera su potpuna automatizacija analiza bialelnih SNP markera, mnogi SNP se mogu analizirati zajedno sa DNK mikročipovima, a najvažnija je SNP efikasnost, koja je vrlo visoka. Sve više postaju markeri izbora za preciznu identifikaciju genotipa i analizu raznovrsnosti. Prethodna istraživanja pokazuju da SNP u funkcionalnim dijelovima gena imaju mogućnost kontrole odgovora na abiotičke i biotičke stresove. Osim toga, moguće je razviti tolerantne sorte usjeva na različite biotičke i abiotičke stresove modifikovanjem enzimske aktivnosti (Khlestkina i Salina, 2006; Huq et al., 2016). Nedostatak je to što SNP marker traži prethodno poznavanje genoma organizma i podložan je utvrđivanju odstupanja. Značajan dio genetičkih istraživanja proveden je u posljednjih nekoliko godina na temelju primjene SNP markera kod: jabuke (Change et al., 2019; Peace et al., 2019), kruške (Terakami et al., 2013; Li et al., 2019), vinove loze (Gomes et al., 2018), pšenice (Huang et al., 2018), itd.

2.4 Primjena molekularnih markera za utvrđivanje genetičkog diverziteta kruške

Primjenom molekularnih markera za utvrđivanje sličnosti i udaljenosti između germplazme bavili su se mnogi istraživači. Razvojem i karakterizacijom 19 mikrosatelitnih parova prajmera razvijenih od genomske DNK evropske kruške (*Pyrus communis* L.) kao i njihovom prenosivošću na ostali *Pyrus* i *Malus* materijal bavili su se Fernández-Fernández et al. (2006). Prajmeri su dizajnirani od dvije različite genomske biblioteke obogaćene sa dva i tri nukleotidna ponavljanja. Kada su testirani kod šest *Pyrus communis* sorti i ostalih 15 *Pyrus* vrsta, 13 prajmera je otkrilo pojedinačni lokusni polimorfizam, a 6 ih je pokazalo kompleksnije obrasce višestrukih lokusa. Dva od osamnaest alela su detektovani po lokusu i dva prajmera su bila dovoljna za razdvajanje svih prinova. Prenosivost devet prajmera parova na *Malus* je demonstrirano kroz amplifikaciju diskretnih proizvoda kod dvije prinove (Fernández - Fernández et al., 2006). Šiško i Javornik (2007) su poredili AFLP i SSR markere za determinaciju genetičke sličnosti između 94 genotipa kruške. Rezultati su pokazali da su AFLP markeri proizveli više polimorfnih markera nego SSR. Međutim, obje tehnike su se pokazale kao pouzdane u proučavanju genetičke sličnosti kod kruške. Usklađivanje protokola za određivanje genetičkih otisaka odabirom seta od 17 SSR markera preporučenih od strane ECPGR-a bavili su se Evans et al. (2009). Ovo istraživanje imalo je za cilj razdvajanje

navedenih 17 markera u prioritetne grupe s obzirom da istraživačke laboratorije nemaju iste kapacitete, te su na ovaj način definisane četiri grupe za koje se istraživači opredjeljuju u zavisnosti od željenog nivoa istraživanja. Grupa jedan konstituiše minimalno jezgro za genetičku identifikaciju i spada u najprioritetniju, dok je četvrta grupa sa najmanjim prioritetom jer se nije multiplikovala tokom ovog istraživanja. Grupe dva i tri se mogu koristiti pri multipleksnom PCR-u. Identifikacija i izdvajanje grupe visoko polimorfnih mikrosatelitnih markera za identifikaciju šest sorti kruške bili su ciljevi istraživanja koje je sprovedeno od strane Wolko et al. (2010). Od ukupno 40 testiranih mikrosatelitnih markera kod 19 je zabilježen visok polimorfizam koji je od izuzetne važnosti za identifikaciju genetičke sličnosti/udaljenosti prinova. SSR markeri se sve više koriste za potvrđivanje i identifikaciju prinova u kolekcijama ili da se kvantificuje njihova srodnost. Sehic et al. (2012) su od preporučenih 17 SSR markera od strane ECPGR-a koristili 12 za karakterizaciju ukupno 86 prinova iz Švedske koje su poređene sa osam referentnih sorti iz kolekcije Brogdejl iz Velike Britanije. Deset od dvanaest markera je amplifikovalo lokuse koji su iskorišćeni za izračunavanje genetičke sličnosti analiziranih prinova. Utvrđeno je da se stare švedske sorte razlikuju od novih švedskih sorti, ali i od većine stranih. Molekularna karakterizacija genetičkih resursa voćaka Švajcarske vršena je u cilju utvrđivanja ukupne genetičke raznovrsnosti. Proučavanja genetičke raznovrsnosti su vršena tokom osam godina primjenom mikrosatelitnih markera radi eliminacije duplikatnih prinova u kolekcijama i identifikacije genotipova koji nose specifične osobine interesantne za oplemenjivačke programe (Bühlmann et al., 2015). Stracieri et al. (2015) su vršili karakterizaciju i identifikaciju 19 sorti kruške koje su kolecionisane na dvije teritorije u Brazilu primjenom 21 SSR markera. Zaključili su da korišćeni markeri imaju izuzetan potencijal kada se govori o identifikaciji sorti kruške. Efikasnost SSR markera za utvrđivanje genetičke strukture kruške potvrdili su i Urrestarazu et al. (2015). Queiroz et al. (2015) su ispitivali 48 prinova kruške iz Portugala primjenom 6 SSR markera koju su preporučeni od strane ECPGR-a radi utvrđivanja duplikatnih prinova u svojim kolekcijama. Od ukupno 48 analiziranih prinova, 36 je imalo unikatne genotipove dok su kod ostalih 12 zabilježeni sinonimi i homonimi. Öztürk i Demirsoy (2016) su proučavali 97 genotipova kruške iz regije Sjeverne Anadolije u Turskoj koje su odabrane na osnovu kvaliteta ploda, otpornosti na bolesti i štetočine. Prinove su analizirane sa 15 SSR markera radi utvrđivanja genetičke sličnosti među navedenih prinova koje su poređene sa četiri referentne sorte. Dobijeni rezultati su potvrdili efikasnost SSR markera za ovaj nivo istraživanja gena. SSR markeri predstavljaju pouzdan metod za evaluaciju genetičkog diverziteta i konstrukciju mapa zbog njihovog kodominantnog nasljeđivanja i alelnog bogatstva. Više od 1 000 SSR markera je razvijeno

kod japanske i evropske kruške sekvencioniranjem genoma, pogotovo sekvencioniranjem kineske kruške (Yamamoto i Terakami, 2016).

Proučavanja genetičke sličnosti germplazme kruške u BiH započela su prije nekoliko godina (Gaši et al., 2013a; Kajkut et al., 2015; Vučković, 2017). Primjenom SSR markera analizirane su ukupno 64 prinove kruške od kojih je 55 tradicionalnih i 9 komercijalnih koje su korišćene kao standard. Ovim istraživanjem utvrđeno je da samo 11 prinova nije imalo unikatne DNK profile, te da tradicionalne BiH sorte predstavljaju interesantan genetički potencijal za oplemenjivačke programe (Gaši et al., 2013a). Proučavanje genetičke sličnosti 6 prinova kruške iz grupe Lubeničarki vršeno je pomoću RAPD markera koji su potvrdili da prnova Krupna lubeničarka ima unikatan genetički profil u odnosu na ostale analizirane prinove iz ove grupe (Kajkut et al., 2015). Vučković (2017) je u svom magistarskom radu proučavala genetičku sličnost prinova iz grupe Lubeničarki pomoću AFLP markera. Identifikovane su tri grupe, pri čemu se može tvrditi da na osnovu dobijenog genetičkog profila jedna prnova ne pripada tipu Lubeničarke, dok ostale dvije grupe pripadaju istim ili vrlo sličnim genotipovima sa malim varijacijama.

2.5 Morfo-pomološka karakterizacija germplazme kruške

Sljedeći veoma važan aspekt karakterizacije germplazme je morfološka karakterizacija. Prije uvođenja molekularnih markera, to je bio jedini način za procjenu osobina germplazme. Potreba za jedinstvenim formatom za opisivanje osobina BGR-a, poznatog kao deskriptor, identifikovana je na globalnom nivou. Deskriptori su međunarodni format i univerzalno razumljiv jezik za BGR, namijenjeni poljoprivrednicima, kuratorima, oplemenjivačima, naučnicima i drugim korisnicima, jer olakšavaju razmjenu i korišćenje resursa. Informacije uključuju detalje kao što su visina biljke, cvjetanje i istorija o precima (<https://www.bioversityinternational.org/e-library/publications/descriptors/>). U upotrebi su deskriptori koje je razvila Međunarodna unija za zaštitu novih biljnih sorti (UPOV) i Međunarodni odbor za biljne genetičke resurse (IPBGR). UPOV deskriptori su namijenjeni za novostvorene sorte, dok su IPBGR deskriptori kreirani posebno za BGR. Prva lista IPBGR deskriptora objavljena je 1977. godine za krompir. Nakon toga, objavljeni su deskriptori i za druge vrste. Prva lista deskriptora za krušku objavljena je 1983. godine (Thibault et al., 1983). Od tog perioda, rad na morfološkoj karakterizaciji je bio mnogo više standardizovan, pojednostavljen i olakšan.

Veliki broj istraživanja koja su značajno doprinijela morfološkoj identifikaciji germplazme kruške sprovedeno je do sada širom svijeta. Uzimajući u obzir ekonomsku važnost pomoloških

karakteristika, postoji velika varijabilnost fenotipskih karakteristika među autohtonim i nekomercijalnim genotipovima i one se razlikuju od komercijalnih i stranih sorti (Đurić et al., 2014). Pereira-Lorenzo et al. (2012) proučavali su morfološke varijacije lokalne germplazme kruške u Španiji kako bi procijenili genetičku raznovrsnost i ustanovili doprinos strane germplazme različitog porijekla lokalnoj germplazmi kruške. Evaluirano je: vrijeme cvjetanja, veličina i oblik ploda, vrijeme dozrijevanja, pojava rđe na plodu, kao i tvrdoća ploda sa i bez epidermisa. Ustanovljeno je da je dio germplazme prenešen iz Francuske i Ujedinjenog Kraljevstva, a da je sadašnja varijacija među germplazmom španske kruške rezultat hibridizacije ovih sorti sa lokalnim. Đurić et al. (2014) ispitivali su pomološke i eko-fiziološke karakteristike germplazme kruške koja je sakupljana širom BiH, a koja je očuvana u *ex situ* uslovima. Utvrđeno je da analizirane kruške dozrijevaju od početka jula do početka oktobra, da je sadržaj suve materije približno isti kao i kod komercijalnih sorti, a da se tvrdoća ploda ogleda u predispoziciji za dugoročno skladištenje i transport. Genetički fond kruške u BiH sa stabilnim karakteristikama predstavlja vrijedan izvor gena za oplemenjivačke programe (Đurić et al., 2014). Biohemiske i pomološke karakteristike 10 starih sorti krušaka sa područja BiH ocijenili su Đurić et al. (2015b). Analizirana je: masa ploda, dužina i širina ploda, dužina i širina peteljke, tvrdoća mesa, sadržaj rastvorljive suve materije u čelijskom soku mesa ploda, pH vrijednost, ukupna kiselost, vitamin C, ukupni fenoli, ukupni flavonoidi i antioksidativni potencijal. Iz dobijenih rezultata zaključeno je da se četiri od deset prinova značajno razlikuju po svojim karakteristikama. To se prije svega odnosi na veličinu i tvrdoću ploda, kao i na antioksidativni potencijal koji doprinosi povećanju dužine perioda skladištenja kao i očuvanju nutritivnih vrijednosti ploda duže vrijeme. Raznovrsnost germplazme kruške u Pakistanu procijenjena je u *in situ* uslovima na osnovu fenotipskih i morfoloških osobina (Ahmed et al., 2017). Proučavane su kvalitativne osobine (habitus, period cvjetanja, intenzitet cvjetanja, oblik i boja ploda, rodnost) i kvantitativne osobine (površina lista, masa ploda, dužina perioda cvjetanja, dužina i širina ploda) prinova kruške. Zaključeno je da bi se ove osobine mogle koristiti za određivanje sličnosti među prinovama, ali bi molekularne metode omogućile tačnije informacije o genetičkoj sličnosti. U istraživanju Kalkisim et al. (2018) su evaluirali 20 različitih lokalnih sorti kruške kroz morfo-pomološke karakteristike kao i hemijski sastav ploda. Rezultati pomoloških i morfoloških analiza su važni za dalje studije očuvanja i detaljne studije za oplemenjivanje. Istovremeno, hemijske analize su potvrdile da hemijska jedinjenja štetno utiču na ljudsko zdravlje dok lokalne sorte sadrže potrebnu količinu mineralnih elemenata i na taj način umanjuju potrebu za tretmanom. Zatim je proučavano dvadeset pet turskih prinova kruške kako bi se identifikovale njihove morfološko-pomološke karakteristike.

Identifikovane su prinove sa srednjom i visokom produktivnošću, a neke od njih su preporučene za proizvodnju i oplemenjivačke programe zbog njihovog ranog vremena sazrijevanja i ukusa (Bayazit et al., 2016). Alizadeh et al. (2015) su proučavali varijabilnost morfoloških i hemijskih karakteristika kod 19 iranskih sorti lokalnih krušaka. Rezultati su pokazali da prinove kruške sa sjeverozapada Irana imaju bogatu genetičku raznovrsnost, što ih čini korisnim resursom germplazme za komercijalnu upotrebu i za oplemenjivačke programe u cilju poboljšanja postojećih sorti i razvoja novih.

Sva ova istraživanja imala su za cilj identifikaciju morfo-pomoloških karakteristika germplazme kruške, što se pokazalo kao korisno sredstvo za identifikaciju jedinstvene germplazme sa specifičnim karakteristikama, koje su interesantne za proizvodnju ali prevanstveno zbog utvrđivanja pozitivnih agronomskih svojstava kako za direktnu upotrebu tako i za oplemenjivanje.

3. CILJ ISTRAŽIVANJA

Uzimajući u obzir značaj BGR-a i njihovu upotrebu za bezbjednost hrane, ovaj rad daje rezultate morfoloških i molekularnih karakteristika germplazme kruške u cilju razvoja najbolje strategije za njihovo očuvanje i održivu upotrebu. Stoga je cilj ovog istraživanja bio:

1. Evaluacija genetičke veze između prinova kruške u *ex situ* kolekciji voćaka Instituta za genetičke resurse (BiH kolekcija kruške) korišćenjem SSR molekularnih markera;
2. Evaluacija fenoloških, morfoloških i pomoloških karakteristika prinova kruške iz BiH kolekcije;
3. Poređenje dobijenih SSR profila prinova kruške sa SSR profilima iz drugih banaka gena kako bi se eliminisali mogući duplikati;
4. Izdvajanje prinova sa jedinstvenim genetičkim profilima u cilju predlaganja za upis u Sortnu listu Republike Srpske i BiH.

4. RADNA HIPOTEZA

Hipoteza ove studije je da molekularna i morfološka karakterizacija, kao i fenološka opažanja i pomološke analize omogućavaju utvrđivanje identiteta prinova kruške u *ex situ* kolekciji voćaka. Identifikacija putem molekularnog profilisanja će omogućiti identifikaciju eventualnih duplikata u BiH kolekciji kruške i ukazati na prinove sa unikatnim molekularnim profilima. Potvrda autohtonosti germplazme kruške u BiH, dobiće se poređenje dobijenih mikrosatelitnih profila analiziranih prinova kruške sa profilima prinova kruške iz drugih međunarodnih kolekcija banaka gena.

5. MATERIJAL I METODE

5.1 Materijal

Kroz aktivnosti RG za voćke i vinovu lozu u okviru Programa očuvanja biljnih genetičkih resursa Republike Srpske, veliki dio germplazme voćaka je kolekcionisan sa prostora cijele BiH nakon što je inventarisan i ocjenjen u *in situ/on* farm uslovima. U skladu sa ciljevima očuvanja i održive upotrebe BGR-a podignuta je *ex situ* poljska kolekcija voćaka Instituta za genetičke resurse u proljeće 2013. godine. Pored prinova kruške, u kolekciji su prisutne prinove jabuke, trešnje i šljive (Slika 1). Svaka prnova zastupljena je sa po dva stabla.

U ovom istraživanju izvršene su molekularne analize upotrebom SSR markera kod ukupno 74 prinove kruške, od čega je 67 iz BiH kolekcije kruške a 7 genotipova su referentne sorte iz SLU Balsgård *ex situ* kolekcije (Tabela 1). Na prinovama iz BiH kolekcije kruške izvršene su i morfo-pomološke analize.



Slika 1. *Ex situ* poljska kolekcija voćaka Instituta za genetičke resurse u Banja Luci

Karakterizacija germplazme kruške (*Pyrus communis* L.) u Bosni i Hercegovini

Tabela 1. Lista analiziranih BiH prinova i referentnih sorti kruške

Br.	Broj u banci gena (Naziv prinove)	Br.	Broj u banci gena (Naziv prinove))
1.	PKB-K-1 (Izmirnska)	38.	PKB-K-40 (Nepoznato ime 2)
2.	PKB-K-2 (Karamut bijeli)	39.	PKB-K-41 (Duplagica)
3.	PKB-K-3 (Litrenjača)	40.	PKB-K-42 (Kantaruša)
4.	PKB-K-4 (Urumenka)	41.	PKB-K-98 (Kantaruša)
5.	PKB-K-5 (Duga bostanka)	42.	PKB-K-137 (Medenka)
6.	PKB-K-6 (Ilinjača)	43.	PKB-K-138 (Stambolka)
7.	PKB-K-7 (Karamut crni)	44.	PKB-K-139 (Urumenka)
8.	PKB-K-8 (Batvača)	45.	PKB-K-140 (Avraška)
9.	PKB-K-9 (Jeribasma)	46.	PKB-K-141 (Izmirnska)
10.	PKB-K-10 (Arapka crna)	47.	PKB-K-142 (Batva)
11.	PKB-K-11 (Zrnka)	48.	PKB-K-143 (Duplagica)
12.	PKB-K-12 (Pšeničarka)	49.	PKB-K-145 (Karamut)
13.	PKB-K-13 (Avraška)	50.	PKB-K-146 (Lubeničarka)
14.	PKB-K-14 (Ječmenka)	51.	PKB-K-219 (Crnica)
15.	PKB-K-15 (Nepoznato stablo 3)	52.	PKB-K-220 (Mednjaka)
16.	PKB-K-16 (Hošija)	53.	PKB-K-221 (Sijerak)
17.	PKB-K-17 (Čađanka)	54.	PKB-K-222 (Šipača)
18.	PKB-K-18 (Jagodnjača)	55.	PKB-K-223 (Ljetnja kolačuša)
19.	PKB-K-19 (Kantaruša)	56.	PKB-K-224 (Karamut)
20.	PKB-K-20 (Citronka)	57.	PKB-K-225 (Šećernjača)
21.	PKB-K-21 (Kongresovka)	58.	PKB-K-226 (Crna miholjka)
22.	PKB-K-22 (Čavka)	59.	PKB-K-228 (Takiša)
23.	PKB-K-23 (Mednica)	60.	PKB-K-233 (Miholjača)
24.	PKB-K-24 (Ljetna kolačuša)	61.	PKB-K-234 (Divlja kruška)
25.	PKB-K-25 (Nepoznato ime 2)	62.	PKB-K-236 (Kaurka)
26.	PKB-K-26 (Mirisavka)	63.	PKB-K-240 (Sijerak)
27.	PKB-K-27 (Lubeničarka)	64.	PKB-K-241 (Zimnjaka)
28.	PKB-K-28 (Gospoinjača)	65.	PKB-K-243 (Slavkova slatka)
29.	PKB-K-29 (Sarajaka)	66.	PKB-K-245 (Lisica)
30.	PKB-K-30 (Karamut)	67.	PKB-K-246 (Begarmuta)
31.	PKB-K-31 (Sarevka)	68.	Konferans (referentna sorta)
32.	PKB-K-32 (Okrugla bostanka)	69.	Carola (referentna sorta)
33.	PKB-K-34 (Jesenja kolačuša)	70.	Clapps Favorit (referentna sorta)
34.	PKB-K-35 (Glibanjka)	71.	Herzogine Elsa (referentna sorta)
35.	PKB-K-36 (Žutica)	72.	Pierre Corneille (referentna sorta)
36.	PKB-K-37 (Bijela takiša)	73.	Esperens Herre (referentna sorta)
37.	PKB-K-38 (Miholjača)	74.	Clara Frijs (referentna sorta)

5.2 Metode

5.2.1 Molekularna karakterizacija prinova kruške primjenom SSR markera

5.2.1.1 DNK ekstrakcija

Mladi listovi su uzorkovani sa ukupno 74 genotipa, od toga 67 su prinove iz BiH kolekcije kruške a 7 su referentne sorte kruške iz *ex situ* kolekcije Balsgård. DNK BiH prinova kruške je izolovana iz svježeg tkiva u Laboratoriji za molekularnu genetiku Instituta za genetičke resurse korišćenjem modifikovanog CTAB ekstrakcionog protokola (Doyle i Doyle, 1990). DNK referentnih sorti izolovana je u Odjeljenju za oplemenjivanje biljaka SLU-Alnarp.

5.2.1.2 Kvantifikacija DNK uzorka

Količina i kvalitet DNK su mjereni u 1 µl svakog uzorka sa spektrofotometrom (ND-1000, ThermoFisher Scientific, USA) prema standardnoj proceduri.

5.2.1.3 PCR amplifikacija

Amplifikacija DNK fragmenta je izvedena upotrebom PCR-a sa deset fluorescentno obilježenih SSR prajmera preporučenih od strane ECPGR-a (Evans et al., 2009; Sehic et al., 2012.). Ukupna zapremina PCR reakcije iznosila je 18 µl od čega je 10 × PCR pufer koji je sadržavao 20 mM MgCl₂, 10 mM dNTP, 0,25 U Taq polimeraze, 10 ng DNA i 0,8 µl svakog prajmera (10µM). Amplifikacija SSR alela je vršena na sljedeći način: 94 °C na 5 min, 10×(94°C na 30 sek, 55-50 °C (-0.5 °C/ciklus) na 45 sek, 72°C na 60 sek), 25× (94 °C na 30 sek, 50°C na 45 sek, 72 °C na 60 sek), 72 °C na 15 min.

Amplifikacija mikrosatelitnih sekvenci je izvršena u Mastercycler epgradient S aparatu (Eppendorf, Hamburg, Njemačka). Da bi se verifikovala uspješna amplifikacija, PCR proizvodi su prvo razdvojeni elektroforezom na 2% agaroznom gelu u 1xTBE puferu i obojeni sa GelRedTM (Biotium, Fremont, CA USA). Vizualizacija amplifikovanih fragmenata izvršena je pomoću UV svjetla uz pomoć transiluminatora (Saveen Werner AB konsortiet, Limhamn, Švedska). U narednom koraku, PCR proizvodi su multiplikovani u sljedećim kombinacijama:

1. CH01d08 (NED), CH01d09 (VIC), CH03d12 (6-FAM);
2. CH05c06 (6-FAM), EMPc117 (VIC), GD147 (PET);
3. EMPc11 (NED), CH04e03 (PET), CH03g07 (6-FAM), CH01f07a (VIC).

Multiplikovani proizvodi su odvojeni i analizirani pomoću genetičkog analizatora serije 3500 (Thermo Scientific, Waltham, MA USA) sa osam kapilara. Evaluacija amplifikovanih produkata vršena je pomoću softvera Gene-Marker v 1,85 (SoftGenetics LLC). Pored ekstrakcije DNK, svi ostali koraci molekularne karakterizacije pomoću SSR markera su izvršeni u Odjeljenju za oplemenjivanje biljaka Švedskog univerziteta poljoprivrednih nauka.

Tabela 2. SSR prajmeri, preporučeni od strane ECPGR-a, korišćeni za amplifikaciju DNK fragmenata sa flourescentnom bojom (NED, VIC, PET i 6 FAM) koji su multiplikovani na ABI genetičkom analizatoru

Br.	Naziv prajmera	Flourescentna boja	Forward prajmer	Reverse prajmer
1.	GD147	PET	TCCCGCCATTTCTCTGC	AAACCGCTGCTGCTGAAC
2.	CH01d08	NED	CTCCGCCGCTATAACACTTC	TACTCTGGAGGGTATGTCAAAG
3.	CH01d09	VIC	GCCATCTGAACAGAATGTGC	CCCTCATTCACTCACATTCCAG
4.	CH01f07a	VIC	CCCTACACAGTTCTCAACCC	CGTTTTGGAGCGTAGGAAC
5.	CH03d12	6-FAM	GCCCAGAACAGCAATAAGTAAACC	ATTGCTCCATGCATAAAGGG
6.	CH03g07	6-FAM	AATAAGCATTCAAAGCAATCCG	TTTTCCAATCGAGTTTCGTT
7.	CH04e03	PET	TTGAAGATGTTGGCTGTGC	TGCATGTCTGTCTCCCAT
8.	CH05c06	6-FAM	ATTGGAACTCTCCGTATTGTGC	ATCAACAGTAGTGGTAGCCGGT
9.	EMPc11	NED	GCGATTAAAGATCAATAAACCCATA	AAGCAGCTGGTTGGTGAAT
10.	EMPc117	VIC	GTTCTATCTACCAAGCCACGCT	CGTTGTGTGTTTACGTGTTG

5.2.2 Morfološka karakterizacija prinova kruške u BiH kolekciji

5.2.2.1 Fenološko praćenje prinova kruške

Fenološke faze su praćene tokom tri vegetacione sezone (2016. 2017. i 2018. godine) na svim stablima u cilju određivanja tačnog početka i kraja fenofaza cvjetanja i zrelosti plodova BiH prinova kruške. Prema Meier et al. (2001), početak cvjetanja je kada je oko 10% cvjetova otvoreno (Slika 2, B), puno cvjetanje kada je otvoreno najmanje 50% cvjetova i kada su otpale prve latice (Slika 2, C) i precvjetavanje kada su sve latice otpale (Slika 2, D). Foto dokumentacija je vršena svakih 5 dana od početka vegetacionog perioda i tokom dozrijevanja plodova (Slika 2).



Slika 2. Fenofaza cvjetanja, prinova Pšeničarka tokom 2017. godine (A-faza balona; B-prvi cvijet otvoren; C-puno cvjetanje; D-precvjetavanje)

5.2.2.2 Morfo-pomološka karakterizacija BiH prinova kruške

U skladu sa modifikovanim deskriptorima za krušku (IBPGRI - Thibault et al., 1983. i Szalatnay, 2006) sljedeće karakteristike su posmatrane:

- Habitus stabla (uspravan, izrazito uspravan ili „Fastigiate“, široka krošnja, padajući krošnja, povijen);
- Vrijeme dozrijevanja (ekstremno rano, veoma rano, rano, srednje, kasno, veoma kasno i ekstremno kasno);
- Relativna veličina ploda (veoma mala, mala, malo do srednja, srednja i velika);
- Osnovna boja (crvena, žuta, zelenožuta, zelena);
- Dopunska boja (narandžasta, ružičastocrvena, crvena, tamnocrvena, ljubičasta, smeđa);
- Prisustvo rđe (odsutno, veoma nisko, nisko, nisko do srednje, srednje, srednje do visoko, visoko, visoko do veoma visoko, veoma visoko);
- Prosječna dužina peteljke (veoma kratka, kratka, srednja, duga i veoma duga);
- Dubina udubljenja peteljke ploda (peteljka u kontinuitetu sa mesom ploda, odsutno, veoma plitko, plitko, srednje, duboko, veoma duboko);
- Debljina peteljke ploda (tanko, srednje, debelo);
- Tvrdoća mesa ploda i
- Sadržaj rastvorljive suve materije u čelijskom soku mesa ploda (°Brix).

Morfometrijske analize plodova sa peteljkom (po 10 plodova svake prinove koja je plodonosila u svakoj godini plodonošenja) su izvršene korišćenjem pomičnog mjerila (Unior, Germany), a težina ploda je mjerena tehničkom vagom (Kern, PFB V2.2., Germany).

Odeđivanje čvrstoće mesa ploda (kg/cm^2) je izvršena uz pomoć penetrometra, model FT 327 (Fruit Pressure Tester, Italy), a sadržaj rastvorljive suve materije u čelijskom soku mesa ploda (°Brix) – jedan °Brix predstavlja 1 g saharoze na 100 g rastvora, a mjerjen je korišćenjem refraktometra model HI 96801 (HANNA, SAD).

5.2.3 Morfološke analize lista kruške

Uzorci od 30 listova po prinovi su uzeti tokom dvije godine (2016. i 2017). Svaki list je mjerен pomičnim mjerilom u cilju određivanja dužine i širine listova, kao i dužine i širine lisne peteljke. Takođe, svaki list je skeniran te je mjerena površina lista korišćenjem Image J softvera (<https://imagej.net/ImageJ>).

5.2.4 Biometrijske analize

Izmjerene morfo-pomološke karakteristike su predstavljene standardnom deskriptivnom statistikom tj. srednjom vrijednošću i standardnom greškom srednje vrijednosti ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$). Grupisanje i obrasci disperzije su analizirani posebno za morfo-pomološke karakteristike i molekularne podatke, u skladu sa strukturom podataka sa klaster analizom i analizom glavnih komponenti – PCoA (Kolar et al., 2017; Mairmans et al., 2018). Koeficijent genetičke sličnosti je izračunat pomoću SM koeficijenta (Sokal i Sneath, 1963; Gower, 1971). Procjena genetičke raznovrsnosti je izračunata pomoću softver paketa GeneALEX 6.5, 2018 (Peakall i Smouse, 2006) i R 3.4.4 (2018). Polimorfizam prajmera i genetička raznovrsnost su izračunati za 47 diploidnih prinova korišćenjem sljedećih parametara: broj različitih alela (Na), broj efektivnih alela (Ne), posmatrana heterozigotnost (H_o – učestalost heterozigotnih jedinki po lokusu), dobijena heterozigotnost (H_e – genetički diverzitet koji predstavlja udio jedinki u populaciji koje su bile heterozigotne nakon jedne generacije slobodne oplodnje) i Shannon-ov index (I – indeks diverziteta) (Shannon, 1948) su analizirani korišćenjem softverskog paketa GeneALEX 6.5 (Peakall i Smouse, 2006).

Frekvencije alela i F statistike: FIT (Wright-ov ukupni koeficijent inbridinga koji predstavlja mjeru redukcije heterozigotnosti individua u odnosu na ukupnu populaciju), FIS (Wright-ov koeficijent inbridinga koji mjeri korelaciju između dva alela odeđenog lokusa unutar jedinki u datoj populaciji), i FST (Wrightov fiksacijski indeks koj mjeri korelaciju između dva alela određenog bialelnog lokusa nasumično odabranog unutar subpopulacije u odnosu na alele nasumično odabrane iz ukupne populacije) (Weir i Cockerham, 1984) su analizirani korišćenjem softverskog paketa GeneALEX 6.5 (Peakall i Smouse, 2006).

6. REZULTATI I DISKUSIJA

6.1 Molekularna analiza genetičke raznovrsnosti germplazme kruške primjenom SSR markera

Primjena 10 SSR prajmer parova u ovom istraživanju rezultirala je dobrom amplifikacijom lako čitljivih SSR fragmenata. Ukupan broj amplifikovanih alela je bio 85, a veličina fragmenata se kretala između 83 bp i 301 bp. Prosječan broj amplifikovanih alela po lokusu bio je 8,5 što je u rasponu nalaza iz prethodnih studija koje je objavio Alizadeh (2015), 11,8 amplifikovanih alela po lokusu, Gaši et al. (2013a) - 14,5 alela po lokusu, Queiroz et al. (2015) - 11,3 alela po lokusu, Rana et al. (2015) - 9,5 alela po lokusu, Liu et al. (2015) – 5,45 alela po lokusu i Sharifani et al. (2017) prijavili su najveći broj amplifikovanih alela po lokusu, 15,1. Najveći broj amplifikovanih alela dobijen je pomoću prajmera CH01d09 (20 amplifikovanih alela), ali prajmer CH01d08 je imao najmanji broj amplifikovanih alela (6 amplifikovanih alela).

U ovoj studiji, prisustvo trećeg alela u jednom ili više lokusa zabilježeno je kod 27 (36,5%) prinova krušaka. Ovo može biti indikacija za triploidne sorte kruške. Nižu učestalost mogućih triploidnih genotipova kruške prijavili su Gaši et al. (2013a) i Ferradini et al. (2017), 31% i 23%. Analizom 127 španskih prinova kruške (Ferreira dos Santos et al., 2011), 38% prinova je imalo treći alel koji je uporediv sa ovom studijom (36,5%). Germplazma BiH kruške je prilično bogata mogućim triploidima. Ovaj zaključak treba potvrditi provjerom protočne citometrije na nivou ploidnosti (Sehic et al., 2012), što nije bio predmet ovog istraživanja ali svakako predstavlja otvoreno pitanje za buduća istraživanja BiH germplazme kruške.

6.1.1 Raznovrsnost i srodnost

Procjene genetičke raznovrsnosti kao što je broj različitih alela (Na), broj efektivnih alela (Ne), uočena heterozigotnost (Ho), dobijena heterozigotnost (He) i Shannon-ov indeks (I) analizirani su kod 47 diploidnih krušaka (tradicionalnih i referentnih) (Tabela 3). Lokus CH01d09 imao je najveći broj različitih alela (12), ali najniži je pronađen kod lokusa CH01d08 (5), GD147 (5), CH04e03 (5) sa srednjom vrijednošću od 7,55. Ako ovo uporedimo sa brojem efektivnih alela, lokus CH01d09 je imao i najveći broj (6,90), iako je najmanji broj zabilježen kod lokusa CH04e03 (2,10), sa srednjom vrednošću od 4,73. Najveća uočena heterozigotnost zabilježena je kod lokusa CH03g07 (0,90), dok je lokus GD147 (0,52) pokazao najnižu uočenu heterozigotnost. Srednja vrijednost uočene heterozigotnosti bila je 0,74 slično ranije prijavljenim vrijednostima od 0,74 (Sehic et al., 2012) i 0,71 (Brini et al., 2008), i nešto

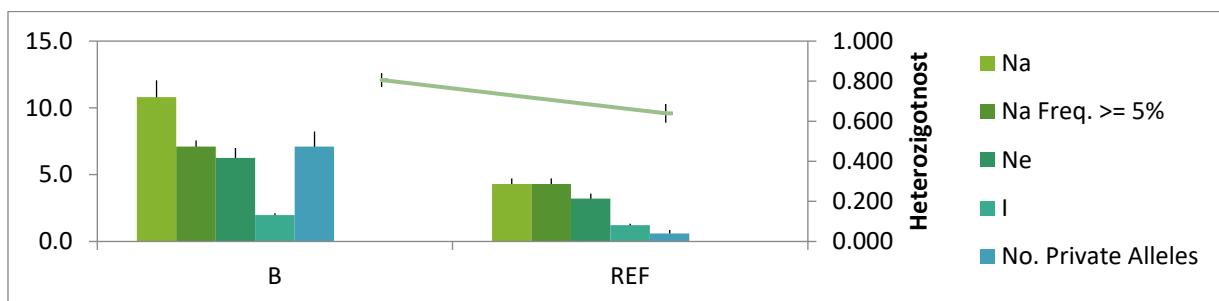
niže od 0,85 koje su pronašli Queiroz et al. 2015. Lokusi CH01d09 i EMPc117 su imali najveću vrijednost očekivane heterozigotnosti (0,83), dok su lokusi GD147 i CH04e03 imali najnižu vrijednost očekivane heterozigotnosti (0,52). Srednja vrijednost očekivane heterozigotnosti bila je 0,72, slična onoj koja je ranije prijavljena: 0,71 (Šiško et al., 2007), 0,78 (Sehic et al., 2012) i 0,74 (Ferradin et al., 2017). Lokus CH04e03 imao je najnižu vrijednost za Shanon-ov indeks (1,02), dok je najviša vrijednost pronađena kod lokusa CH01d09 (2,09). Srednja vrijednost za svih deset prajmera bila je 1,60. Kod Erfani-Moghadam i Zarei (2018) srednja vrijednost za I kao indikatora genetičke raznovrsnosti bila je 1,04 što je niže nego u ovoj studiji. Oni su naveli da relativno visoka vrijednost I u nekim od istraživanih lokusa predstavlja efikasnost mikrosatelitnih lokusa u detekciji varijacija za *Pyrus*. Veću vrijednost za I (1,95) izvjestili su Wolko et al. (2010) za *Pyrus pyraster* L.

Tabela 3. Broj različitih alela (Na), broj efektivnih alela (Ne), dobijena heterozigotnost (Ho) dobijena heterozigotnost (He) i Shannon-ov index (I) kod diploidnih BiH prinova i referentnih sorti kruške

Lokus	Na	Ne	Ho	He	I
CH05c06	8	4,66	0,67	0,72	1,63
CH03d12	5,5	4,47	0,70	0,74	1,49
GD147	5	2,40	0,52	0,52	1,07
EMPc117	9	6,86	0,76	0,83	1,96
EMPc11	6	4,43	0,57	0,68	1,43
CH01d08	5	3,67	0,87	0,72	1,40
CH01d09	12	6,90	0,86	0,83	2,09
CH01f07	9	5,81	0,89	0,82	1,91
CH03g07	10,5	5,94	0,90	0,82	1,94
CH04e03	5	2,10	0,67	0,52	1,02
Srednja vrijednost	7,55	4,73	0,74	0,72	1,60

Na sl. 3. prikazani su rezultati alelnih obrazaca kod dvije grupe (ovdje nazvane populacije): BiH prinova i referentnih sorti kruške. Dobijeni rezultati su pokazali da su BiH prinove kruške imale veći broj (10,8) različitih alela (Na) od referentnih sorti (4,3). Takođe, što se tiče broja različitih alela s učestalošću $> 5\%$, BiH prinove kruške su imale veću vrijednost (7,1) u odnosu na referentne sorte (4,3). BiH prinove kruške su imale veći broj efektivnih alela (Ne) (6,25) u odnosu na referentne sorte (3,2). Vrijednosti I je bila viša za BiH germplazmu (1,97) u odnosu na referentne sorte (1,21). Takođe, broj privatnih alela (aleli pronađeni u samo jednoj populaciji) bio je mnogo veći za BiH prinove kruške (7,1) u odnosu na referentne sorte (0,6). Dakle, alelni obrasci u populacijama ukazuju na veću alelnu raznovrsnost BiH germplazme u odnosu na

referentne sorte. Međutim, treba imati u vidu da je broj BiH prinova bio mnogo veći u odnosu na referentne, što je moglo uticati na rezultate.



Slika 3. Alelni obrasci kod BiH prinova (B) i referentnih sorti (REF) kruške (Na-broj različitih alela, Na (Frekv. $\geq 5\%$)-Broj različitih alela sa frekvencijom $\geq 5\%$, Ne- efektivni aleli, I-Shannon-ov index, No. Private Alleles-Broj privatnih alela unikatnih u pojedinačnoj populaciji)

6.1.2 Analiza frekvancije alela

Rezultati dobijeni analizom frekvencije alela ukazuju na prisustvo dva unikatna alela pronađena u grupi BiH prinova kruške. Prinova PKB-K-26 (Mirisavka) imala je unikatni alel 223 dobijen lokusom CH03G07 i PKB- K-146 (Lubeničarka) koja je imala unikatni alel 159 dobijen lokusom CH01d09.

U ovom istraživanju su identifikovani rijetki aleli, prisutni na frekvenciji $<0,01\%$. Prinove iz BiH kolekcije kruške imale su prilično veliki broj rijetkih alela. Lokus CH01d09 i CH03g07 imali su po 4 rijetka alela, 125, 131, 133, 159 i 211, 247, 255, 257. Lokus CH05c06 je imao dva rijetka alela (103 i 111) i lokus CH01f07 (182, 185). Jedan rijetki alel je zabilježen na lokusima CH03d12 (121), GD147 (127), EMPc117 (101) i CH04e03 (196). Ukupno je zabilježeno 16 rijetkih alela kod 67 prinova kruške iz BiH kolekcije. Liu et al. (2015) prijavili su 30 rijetkih alela u svojoj studiji.

6.1.3 Genetička diferencijacija BiH prinova i referentnih sorti kruške

Vrijednost inbriding koeficijenta (F_{IT}) za sve analizirane prinove sa 10 prajmer parova (Tabela 4) je u rasponu od -0,058 do 0,267 sa srednjom vrijednošću od 0,018. U sličnom istraživanju o BiH kruškama koje su proveli Gašić et al. (2013a), F_{IT} je bio 0,07. Wright-ov koeficijent inbridinga (F_{IS}) bio je u rasponu od -0,005 do 0,081. Srednja vrijednost F_{IS} -a bila je -0,034. Negativna vrijednost ovog koeficijenta ukazuje na povećanu heterozigotnost. Giovannini et al. (2011) takođe su prijavili negativnu vrijednost za F_{IS} -0,09 za germplazmu kruške iz južne Italije. Ferreira dos Santos (2011) je objavio srednju vrijednost F_{IS} -a 0,098 jednaku germplazmi španske kruške, dok je Gašić et al. (2013a) prijavio vrijednost 0,051 za germplazmu BiH kruške. Srednja vrijednost za F_{ST} referentnih sorti i BiH prinova kruške bila je 0,053. Gašić et

al. (2013a) izvijestili su o nižoj vrijednosti F_{ST} -a od 0,019, dok su Ferradini et al. (2017) objavili vrijednost F_{ST} od 0,014 i zaključili da je postojala značajno visoka genetička diferencijacija.

Tabela 4. F statistika (Weir i Cockerham, 1984) za 47 diploidnih BiH prinova i referentnih sorti kruške (Fit-vrijednost inbriding koeficijenta, Fis-Wright-ov koeficijent inbriding, Fst-fiksacijski indeks).

Br.	Lokus	Fit	Fis	Fst
1.	CH05c06	0,123	0,075	0,052
2.	CH03d12	0,115	0,064	0,054
3.	GD14	0,059	-0,005	0,064
4.	EMPc117	0,117	0,081	0,039
5.	EMPc11	0,267	0,161	0,126
6.	CH01d08	-0,206	-0,219	0,011
7.	CH01d09	0,042	-0,034	0,073
8.	CH01f07	-0,058	-0,085	0,025
9.	CH03g07	-0,044	-0,101	0,052
10.	CH04e03	-0,230	-0,278	0,038
	Srednja vrijednost	0,018	-0,034	0,053

6.1.4 Genetička sličnost

Nivo genetičke sličnosti BiH prinova kruške je izračunat prema SM koeficijentu (Sokal i Sneath, 1963). Zabilježen je visok nivo polimorfizma kod analiziranih BiH prinova kruške. Od analizirane 74 prinove, identifikovano je šest grupa prinova koje su imale koeficijent genetičke sličnosti 1,0 (Tabela 5). To su sljedeće prinove: PKB-K-9 (Jeribasma) i PKB-K-11 (Zrnka); PKB-K-18 (Jagodnjača) i PKB-K-19 (Kantarusa); PKB-K-25 (Nepoznato ime 2) i PKB-K-40 (Nepoznato ime 2); PKB-K-29 (Sarajka), PKB-K-30 (Karamut) i PKB-K-31 (Sarevka); PKB-K-41 (Duplagica) i PKB-K-143 (Duplagica) i PKB-K-145 (Karamut) i PKB-K-224 (Karamut).

Od šest grupa prinova koje su imale koeficijent genetičke sličnosti 1,0 tri grupe predstavljaju duplikatne prinove: prva grupa - Nepoznato ime 2 (PKB-K-25 i PKB-K-40), druga grupa - Duplagica (PKB-K-41 i PKB-K-143) i treća grupa - Karamut (PKB-K-145 i PKB-K-224). Preostale tri grupe prinova koje su imale koeficijent genetičke sličnosti 1,0 predstavljaju sinonime, a to su: prva grupa - PKB-K-9 (Jeribasma) i PKB-K-11 (Zrnka), druga grupa - PKB-K-18 (Jagodnjača) i PKB-K-19 (Kantarusa) i treća grupa - PKB-K-30 (Karamut), PKB-K-31 (Sarevka) i PKB-K-29 (Sarajka).

Preostale 64 analizirane prinove su formirale dvije glavne grupe. Prvu grupu čine prinove sa koeficijentom genetičke sličnosti između 0,547-0,800. Drugu grupu čine prinove sa koeficijentom genetičke sličnosti između 0,801-0,999 (Slika 4).

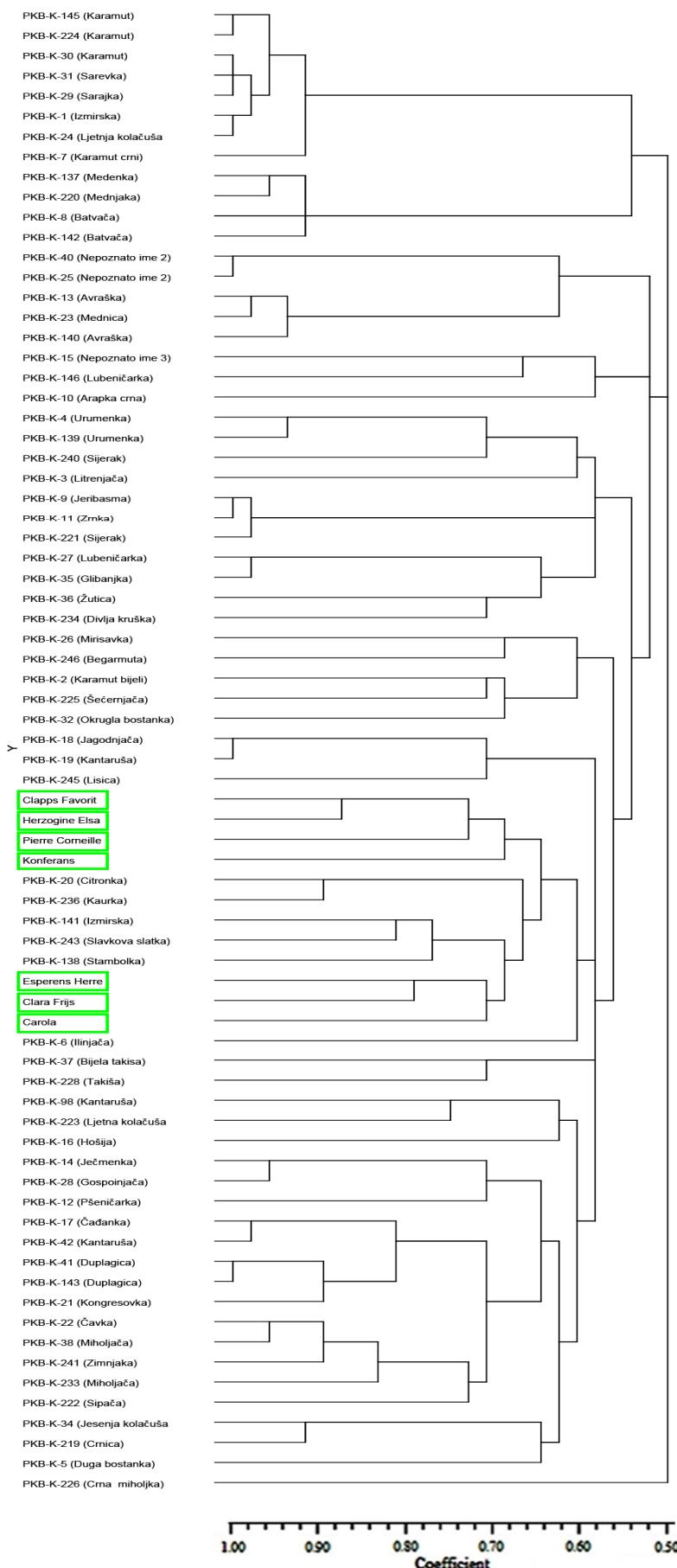
Tabela 5. Lista prinova koje su imale koeficijent genetičke sličnosti 1,0 podijeljene u dvije grupe: duplikatne prinove i sinonimi.

Br.	Duplikati	Sinonimi
1.	PKB-K-145 (Karamut) PKB-K-224 (Karamut)	PKB-K-18 (Jagodnjača) PKB-K-19 (Kantaruša)
2.	PKB-K-41 (Duplagica) PKB-K-143 (Duplagica)	PKB-K-9 (Jeribasma) PKB-K-11 (Zrnka)
3.	PKB-K-25 (Nepoznato ime 2) PKB-K-40 (Nepoznato ime 2)	PKB-K-29 (Sarajka) PKB-K-30 (Karamut) PKB-K-31 (Sarevka)

Pored toga, u BiH kolekciji kruške zabilježeno je sedam grupa homonima: prva grupa – Urumenka (PKB-K-4 i PKB-K-139), druga grupa – Avraška (PKB-K-13 i PKB-K-140), treća grupa Lubeničarka (PKB-K-27 i PKB-K-146), četvrta grupa – Ljetnja kolačuša (PKB-K-24 i PKB-K-223), peta grupa – Miholjača (PKB-K-38 i PKB-K-233), šesta grupa - Sijerak (PKB-K-221 i PKB-K-240) i sedma grupa – Kantaruša (PKB-K-42 i PKB-K-98).

Na osnovu grupisanja prema SM koeficijentu, BiH genetički bazen kruške je veoma raznovrstan. Slična istraživanja provedena su od strane Gašić et al. (2013a), gdje je germplazma kruške iz *ex situ* kolekcije u Srebreniku i kruške sakupljene iz okućnica u sarajevskom regionu, analizirana samo molekularnim markerima. Utvrđeno je da je lokalna germplazma kruške veoma zanimljiva i da sadrži visoku molekularnu raznovrsnost. Ovo istraživanje je provedeno u širem kontekstu, gdje su prinove kruške prikupljene u cijeloj BiH kako bi se procijenile njihove fenološke, morfo-pomološke i genetičke karakteristike.

Karakterizacija germplazme kruške (*Pyrus communis* L.) u Bosni i Hercegovini

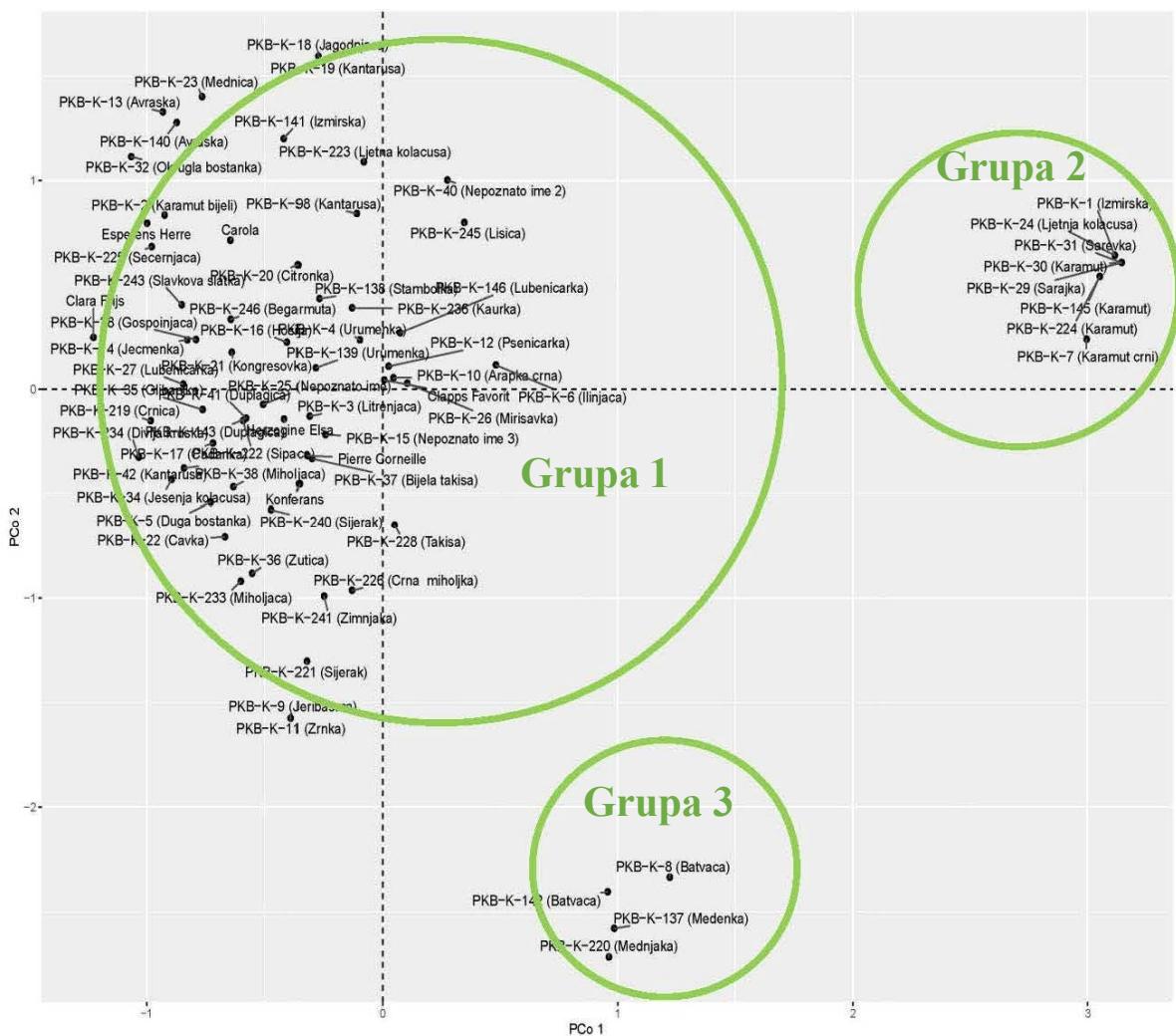


Slika 4. Grupisanje 67

BiH prinova i 7
referentnih sorti kruške
(označene zelenim
poljem) dobijenih na
osnovu SM koeficijenta

6.1.5 Analiza molekularnih karakteristika BiH germlazme kruške

Analiza glavnih komponenti, u kojoj su prve dvije dimenzije objasnile 20,99% varijaciju, pokazuju razdvajanje BiH prinova kruške u tri grupe (Slika 5). Prvu grupu čine sve diploidne i dio triploidnih BiH prinova grupisanih zajedno sa svim referentnim sortama kruške. Drugu grupu čine isključivo triploidne BiH prinove kruške: sinonimi, duplikati i jedna unikatna prnova (PKB-K-1 Izmirска; PKB-K-7 Karamut crni; PKB-K-24 Ljetnja kolačuša; PKB-K-29 Sarajka; PKB-K-30 Karamut, PKB-K-31 Sarevka, PKB-K-145 Karamut i PKB-K-224 Karamut).



Slika 5. Dvodimenzionalni grafikon analize komponenti 67 BiH prinova i 7 referentnih sorti kruške analiziranih pomoću SSR markera (grupa 1 - veći dio BiH prinova je grupisan zajedno sa referentnim sortama (sve diploidne i dio triploidnih sorti), grupa 2 - isključivo BiH triploidne prinove kruške, grupa 3 - isključivo BiH triploidne prinove kruške)

Treću grupu čine takođe 4 triploidne BiH prinove sa sličnim nazivima, ali sve su imale unikatne

genetičke profile (PKB-K-8 Batvača; PKB-K-42 Batva; PKB-K-137 Medenka; PKB-K-220 Mednjaka). Druga i treća grupa su udaljene od prve grupe i ove dvije grupe sadrže samo triploidne prinove, te nijednu referentnu sortu.

U ovom istraživanju, BiH germplazma kruške je pokazala visok nivo polimorfizma. Samo šest grupa prinova imalo je koeficijent sličnosti 1,0. Tri grupe prinova: Nepoznato ime 2- (PKB-K-25 i PKB-K-40), Duplagica - (PKB-K-41 i PKB-K-143) i Karamut - (PKB-K-145 i PKB-K- 224) predstavljaju duplikatne prinove, dok preostale tri prinove predstavljaju sinonime (PKB-K-9 Jeribasma-PKB-K-11 Zrnka; PKB-K-18 Jagodnjača - PKB-K-19 Kantaruša; PKB-K-29 Sarajka - PKB- K-30 Karamut - PKB-K-31 Sarevka).

Identifikovano je i sedam grupa homonima: Urumenka (PKB-K-4 i PKB-K-139), Avraška (PKB-K-13 i PKB-K-140), Lubeničarka (PKB-K-27 i PKB-K-146), Ljetnja kolačuša (PKB-K-24 i PKB-K-223), Miholjača (PKB-K-38 i PKB-K-233), Sijerak (PKB-K-221 i PKB-K-240) i Kantaruša (PKB-K-42 i PKB-K-98). Visok stepen polimorfizma je sličan prethodnim istražvanjima koja su izvršena kod kruške (Miranda et al., 2010; Lui et al., 2015; Bühlmann et al., 2015; Ferradini et al., 2017).

6.1.6 Poređenje SSR podataka dobijenih za BiH germplazmu kruške sa drugim bazama podataka

Pored utvrđivanja genetičke raznovrsnosti u BiH kolekciji kruške, jedan od ciljeva je bio da se dobijeni SSR podaci uporede sa SSR podacima iz drugih banaka gena. Gašić et al. (2013a) izvršili su karakterizaciju 55 BiH prinova kruške sa SSR markerima sa dvije različite lokacije, iz *ex situ* kolekcije u Srebreniku i prinova prikupljenih sa okućnica u sarajevskom regionu. Iz standardnog seta ECPGR SSR lokusa za skrining kruške, samo pet (CH01f07a, CH01d09, CH04e03, EMPc11 i EMPc117) je korišćeno u istraživanju. Na osnovu toga, izvršeno je poređenje podataka dobijenih u ovom istraživanju sa podacima dobijenim od Gašić et al. (2013a) korišćenjem SM koeficijenta. Prema koeficijentu sličnosti, nije bilo prinova koje su imale koeficijent sličnosti 1,0. Najveći koeficijent sličnosti između ova dva istraživanja bio je 0,943 (PKB-K-139 Urumenka/Šećerka), dok je najniži koeficijent sličnosti bio 0,761 (PKB- K-13 Avraška/Zimjača). Između ova dva istraživanja nema duplikatnih prinova, što ukazuje na to da germplazma kruške u BiH predstavlja veoma raznovrstan genetički bazen.

Dobijeni SSR podaci iz ovog istraživanja su takođe poređeni sa SSR podacima iz Brodjejl kolekcije (Velika Britanija). U svojoj bazi podataka, nalaze se SSR podaci za 553 prinove kruške koje su karakterisane sa istih 10 SSR prajmera (Tabela 2) koji su korišćeni i u ovoj studiji. Koristeći SM koeficijent, dobijeni podaci iz ovog istraživanja su upoređeni sa

podacima iz Brogdejl kolekcije. Raspon genetičke sličnosti između poređenih podataka je bio od 0,83 do 1,0. Najniži koeficijent genetičke sličnosti zabilježen je između prinova PKB-K-220 Mednjaka/Tama. Koeficijent sličnosti 1,0 dobijen je za sljedeće prinove: PKB-K-16 (Hošija)/Coscia_Precoce, PKB-K-141 (Izmirska)/ Villams, PKB-K-141 (Izmirska)/ Nie_Russet_Bartlett i PKB-K-141 (Izmirska)/ Parburton. Ovi rezultati ukazuju da su samo dvije prinove iz BiH *ex situ* kolekcije kruške imale isti koeficijent sličnosti sa prinovama iz Brogdejl kolekcije. Na osnovu svih podataka dobijenih upoređivanjem sa drugim bazama podataka, BiH germplazma kruške predstavlja veoma vrijedan i jedinstven genetički materijal.

6.2 Morfološke karakteristike BiH prinova kruške

6.2.1 Habitus stabla

Habitus stabla analiziran je kod svih proučavanih BiH prinova kruške. Četiri forme habitusa stabla su utvrđene tokom proučavanja: uspravan, izrazito uspravan (Fastigiate), široka krošnja i padajuća krošnja. Najprisutniji oblik habitusa stabla je bio uspravan (60,3%), potom je široka krošnja (23,5%), padajuća krošnja (8,8%), a najmanje prinova je bilo sa izrazito uspravnom (Fastigiate) (7,4%) krošnjom. Iako je prema IBPGR-jevom deskriptoru, poželjno da stabla budu stara oko 10 godina da bi se dala konačna ocjena za ovu osobinu, za banku gena je veoma važno uvidjeti razlike između prinova što je prije moguće u cilju povezivanja ovog svojstva sa plodonosenjem. Kod BiH prinova kruške koje su plodonosile, najčešći oblik stabala bio je uspravan (53,3%), široka krošnja (30%), izrazito uspravna (Fastigiate) (10%) i padajuća krošnja (6,7%) (Tabela 6).

Tabela 6. Grupisanje BiH prinova kruške koje su plodonosile prema habitus stabla (uspravan, izrazito uspravan „Fastigiate“, široka krošnja i padajuća krošnja)

Br.	Uspravan	Izrazito uspravan "Fastigiate"	Široka krošnja	Padajuća krošnja
1.	PKB-K-8 (Batvača)	PKB-K-20 (Citronka)	PKB-K-3 (Litrenjača)	PKB-K-17 (Čađanka)
2.	PKB-K-10 (Arapka crna)	PKB-K-25 (Nepoznato ime 2)	PKB-K-6 (Ilinjača)	PKB-K-29 (Sarajka)
3.	PKB-K-18 (Jagodnjača)	PKB-K-40 (Nepoznato ime 2)	PKB-K-14 (Ječemnka)	
4.	PKB-K-19 (Kantaruša)		PKB-K-16 (Hošija)	
5.	PKB-K-22 (Čavka)		PKB-K-21 (Kongresovka)	
6.	PKB-K-23 (Mednica)		PKB-K-31 (Sarevka)	
7.	PKB-K-24 (Ljetnja kolačuša)		PKB-K-37 (Bijela takiša)	
8.	PKB-K-32 (Okrugla bostanka)		PKB-K-138 (Stambolka)	
9.	PKB-K-34 (Jesenja kolačuša)		PKB-K-142 (Batva)	
10.	PKB-K-35 (Glibanjka)			
11.	PKB-K-41 (Duplagica)			
12.	PKB-K-137 (Medenka)			
13.	PKB-K-139 (Urumenka)			
14.	PKB-K-140 (Avraška)			
15.	PKB-K-141 (Izmiska)			
16.	PKB-K-143 (Duplagica)			

6.2.2 Morfološke karakteristike lista

Analizirani su listovi svih BiH prinova kruške kako bi se odredile njihove morfološke karakteristike. Tokom dvije godine, praćene su sljedeće karakteristike: dužina i širina lisne plojke, dužina i širina lisne peteljke kao i površina lista.

Prema rezultatima dobijenim za morfološke karakteristike lista (Tabela 7), za analizirane prinove utvrđene su četiri grupe: grupa sa veoma malim listovima, grupa sa malim listovima, grupa sa malim do srednjim listovima i grupa sa srednjim listovima (Tabela 8). Najprisutniji su listovi sa malom do srednjom veličinom (29), zatim mali listovi (26), srednji listovi (12) i samo jedna prnova koja je imala veoma male listove.

Karakterizacija germplazme kruške (*Pyrus communis* L.) u Bosni i Hercegovini

Tabela 7. Srednje vrijednosti i standardna greška ($\bar{X} \pm S\bar{x}$) za praćene karakteristike lista: dužina lista, širina lista, dužina peteljke, širina peteljke i površina lista (crveno polje-najveće vrijednosti, žuto polje-najmanje vrijednosti)

genotype		leaflength [mm]	leafwidth [mm]	stalklength [mm]	stalkwidth [mm]	leafarea [cm ²]					
PKB-K-1 (Imarski)	NSR	X	S*	S*	S*	S*					
PKB-K-10 (Avračić)	2006	64,88	± 2,21	48,84	± 0,98	42,12	± 2,9	1,98	± 0,03	28,13	± 1,59
PKB-K-10 (Avračić)	2007	49,92	± 0,74	52,62	± 0,77	36,4	± 1,66	1,06	± 0,08	26,98	± 1,53
PKB-K-11 (Zmala)	2006	58,77	± 1,73	43,11	± 1,81	39,97	± 0,96	1,12	± 0,04	18,07	± 1,39
PKB-K-11 (Zmala)	2007	58,51	± 1,44	36,32	± 1,01	27,11	± 1,15	1,13	± 0,04	18,61	± 1,12
PKB-K-12 (Prenčarke)	2006	46,8	± 1,73	32,15	± 1,04	28,83	± 2,15	0,64	± 0,02	14,56	± 0,67
PKB-K-12 (Prenčarke)	2007	52,4	± 0,92	31,08	± 0,88	36,8	± 2,83	0,66	± 0,02	13,99	± 0,44
PKB-K-13 (Avračić)	2006	64,22	± 1,13	54,21	± 1,26	50,07	± 2,24	1,67	± 0,02	22,23	± 1,32
PKB-K-13 (Avračić)	2007	63,04	± 0,94	58,23	± 0,96	46,63	± 1,84	1,11	± 0,02	27,44	± 1,12
PKB-K-13 (Avračić)	2008	59,45	± 1,84	39,23	± 1,13	31,78	± 1,96	0,96	± 0,05	16,77	± 1,04
PKB-K-13 (Avračić)	2009	50,73	± 1,52	37,4	± 0,92	25,08	± 1,24	1,2	± 0,04	16,67	± 1,06
PKB-K-137 (Medenice)	2006	69,78	± 1,40	47,14	± 0,76	33,54	± 2,18	1,26	± 0,03	22,23	± 1,02
PKB-K-137 (Medenice)	2007	70,7	± 1,22	49,46	± 1,42	37,30	± 2,06	1,17	± 0,04	21,25	± 0,99
PKB-K-138 (Stambolla)	2006	61,9	± 1,7	49,43	± 1,05	31,83	± 2,01	0,89	± 0,03	13,62	± 1,09
PKB-K-138 (Stambolla)	2007	64,66	± 2,00	42,13	± 2,25	42,54	± 3,48	1,06	± 0,05	30,04	± 1,13
PKB-K-139 (Urumenka)	2006	80,57	± 1,74	50,48	± 1,44	42,57	± 1,86	1,12	± 0,02	28,72	± 0,96
PKB-K-139 (Urumenka)	2007	72,52	± 1,62	38,95	± 0,83	45,66	± 1,89	0,97	± 0,02	28,95	± 0,94
PKB-K-14 (Jel menkal)	2006	58,6	± 1,25	42,51	± 1,12	38	± 2,19	0,88	± 0,02	17,35	± 0,77
PKB-K-14 (Jel menkal)	2007	67,47	± 1,16	46,82	± 0,78	39,71	± 2,12	1,07	± 0,02	17,45	± 0,78
PKB-K-140 (Avračić)	2006	79,07	± 1,29	53,42	± 1,36	36,56	± 2,00	1,33	± 0,03	30,12	± 1,51
PKB-K-143 (Imarski)	2006	62,03	± 0,95	42,22	± 0,94	32,03	± 1,76	1,07	± 0,03	12,23	± 1,52
PKB-K-143 (Imarski)	2007	65,16	± 1,11	39,53	± 0,99	29,93	± 2,42	1,19	± 0,03	19,19	± 0,64
PKB-K-142 (Fratva)	2006	67,1	± 1,36	37,57	± 0,90	35,72	± 1,87	1,17	± 0,03	19,19	± 0,65
PKB-K-142 (Fratva)	2007	66,32	± 1,46	43,93	± 0,81	38,61	± 1,18	1,34	± 0,04	22,06	± 0,56
PKB-K-143 (Duplečak)	2006	47,6	± 1,02	37,75	± 1,04	41,77	± 2,04	1,08	± 0,04	15,76	± 0,58
PKB-K-143 (Duplečak)	2007	70,37	± 1,06	54,13	± 1,04	40,12	± 1,59	1,30	± 0,03	30,64	± 1,38
PKB-K-145 (Karamut)	2006	71,88	± 1,28	50,13	± 1,20	36,37	± 1,59	1,4	± 0,03	25,84	± 0,79
PKB-K-145 (Karamut)	2007	67,38	± 1,06	46,03	± 0,77	28,6	± 1,24	1,28	± 0,01	26,29	± 0,74
PKB-K-146 (Lubnjanika)	2006	71,73	± 1,34	45,22	± 0,86	38,4	± 1,63	1,3	± 0,03	24,39	± 0,75
PKB-K-146 (Lubnjanika)	2007	69,8	± 1,32	40,59	± 1,06	40,21	± 2,06	1,1	± 0,03	24,49	± 0,76
PKB-K-15 (Neponeto stablo 3)	2006	53,46	± 1,20	30,59	± 0,88	29,5	± 2,3	0,58	± 0,03	12,90	± 0,50
PKB-K-15 (Neponeto stablo 3)	2007	36,49	± 0,80	31,43	± 0,76	31,15	± 1,50	0,8	± 0,02	10,58	± 0,02
PKB-K-16 (Hrkala)	2006	89,44	± 2,05	47,48	± 2,17	35,44	± 1,85	1,1	± 0,03	22,3	± 1,39
PKB-K-17 (Čedadina)	2007	66,71	± 1,70	40,53	± 1,20	38,51	± 1,48	1,05	± 0,03	22,03	± 1,20
PKB-K-17 (Čedadina)	2008	50,28	± 1,96	39,47	± 1,20	38,51	± 1,47	1,02	± 0,03	19,04	± 1,22
PKB-K-18 (Jasodničat)	2006	57,88	± 1,03	43,24	± 0,74	40,64	± 1,50	1,07	± 0,03	16,57	± 1,11
PKB-K-18 (Jasodničat)	2007	58,09	± 1,79	44,08	± 1,16	36,81	± 1,82	1,08	± 0,03	18,33	± 1,06
PKB-K-19 (Karamut)	2006	50,29	± 1,25	30,93	± 0,90	37,08	± 2,34	0,79	± 0,02	14,34	± 0,71
PKB-K-19 (Karamut)	2007	56,71	± 1,30	32,61	± 0,73	31,16	± 1,38	1,03	± 0,02	12,46	± 0,64
PKB-K-2 (Karamut bijeli)	2006	56,47	± 1,93	44,00	± 1,18	37,02	± 1,82	0,98	± 0,03	19,66	± 0,99
PKB-K-2 (Karamut bijeli)	2007	51,29	± 1,28	35,73	± 0,97	35,95	± 1,79	1	± 0,03	10,88	± 1,13
PKB-K-20 (Cirkon)	2006	57,45	± 2,53	33,19	± 0,99	37,20	± 1,37	0,98	± 0,03	13,66	± 0,66
PKB-K-21 (Konsresovka)	2006	61,38	± 1,54	33,93	± 1,06	29,46	± 1,16	1,18	± 0,03	13,99	± 0,66
PKB-K-21 (Konsresovka)	2007	67,81	± 2,07	53,08	± 1,19	43,84	± 2,15	1,16	± 0,04	26,18	± 1,45
PKB-K-219 (Crnka)	2006	53,56	± 1,66	39,54	± 0,74	46,33	± 1,90	1,3	± 0,03	27,18	± 1,30
PKB-K-219 (Crnka)	2007	55,13	± 1,12	32,72	± 1,18	36,63	± 1,63	0,63	± 0,03	14,28	± 0,62
PKB-K-22 (Čavčav)	2006	48,93	± 1,31	37,67	± 1,53	19,08	± 1,40	0,82	± 0,03	14,68	± 0,59
PKB-K-22 (Čavčav)	2007	56,77	± 1,04	40,19	± 1,20	27,61	± 1,48	1,03	± 0,04	14,78	± 1,08
PKB-K-220 (Mehnikal)	2006	60,46	± 1,78	38,5	± 1,20	22,45	± 1,38	1,16	± 0,03	13,87	± 0,58
PKB-K-220 (Mehnikal)	2007	58,21	± 1,49	36,73	± 1,60	26,48	± 1,56	1,07	± 0,03	15,26	± 0,59
PKB-K-221 (Silek)	2006	44,52	± 0,84	27,3	± 0,66	30,54	± 1,45	0,6	± 0,03	17,26	± 0,64
PKB-K-221 (Silek)	2007	50,7	± 1,51	32,57	± 1,04	29,45	± 2,06	0,68	± 0,03	12,43	± 0,66
PKB-K-222 (Šipka)	2006	54,57	± 1,04	35,51	± 0,79	22,53	± 1,31	0,96	± 0,04	25,88	± 1,49
PKB-K-223 (Miholjaka)	2007	51,4	± 1,93	31,02	± 1,03	25,46	± 1,56	0,97	± 0,02	10,19	± 0,56
PKB-K-23 (Miholjaka)	2006	62,52	± 1,54	39,72	± 1,27	22,8	± 1,26	1,17	± 0,03	17,22	± 0,74
PKB-K-23 (Miholjaka)	2007	62,6	± 1,38	41,14	± 1,42	23,85	± 1,20	1,1	± 0,03	21,82	± 0,92
PKB-K-234 (Karamut)	2006	56,8	± 1,37	38,75	± 0,70	20,4	± 1,67	0,68	± 0,04	17,18	± 0,68
PKB-K-234 (Karamut)	2007	53,17	± 1,06	44,63	± 0,99	31,34	± 1,51	0,99	± 0,03	26,06	± 1,50
PKB-K-236 (Crne Miholjake)	2006	50,74	± 1,26	40,83	± 1,41	27,61	± 1,52	0,97	± 0,03	16,7	± 0,77
PKB-K-236 (Crne Miholjake)	2007	51,29	± 1,32	32,48	± 1,09	36,32	± 2,12	0,91	± 0,03	9,82	± 0,33
PKB-K-228 (Tačka)	2006	57,8	± 1,06	34,38	± 1,04	22,76	± 1,50	1,09	± 0,03	17,16	± 0,84
PKB-K-228 (Tačka)	2007	53,54	± 1,76	30,45	± 1,20	33,75	± 2,36	0,68	± 0,03	12,54	± 0,45
PKB-K-23 (Ljetna ločljavica)	2006	60,06	± 2,37	34,02	± 0,79	36,77	± 2,16	0,93	± 0,03	16,94	± 0,65
PKB-K-23 (Ljetna ločljavica)	2007	60,18	± 1,28	47,15	± 0,93	41,55	± 1,19	1,15	± 0,03	16,77	± 0,76
PKB-K-240 (Medenice)	2006	60,03	± 1,76	40,06	± 1,06	31,99	± 2,27	0,95	± 0,03	13,37	± 0,89
PKB-K-240 (Medenice)	2007	58,43	± 1,33	39,77	± 1,23	36,83	± 1,56	1,12	± 0,03	18,75	± 0,75
PKB-K-233 (Miholjaka)	2006	70,52	± 1,28	45,82	± 0,57	37,81	± 1,92	1,22	± 0,03	24,82	± 1,06
PKB-K-233 (Miholjaka)	2007	65,69	± 1,34	41,93	± 0,55	32,39	± 1,74	0,94	± 0,03	22,17	± 0,94
PKB-K-234 (Divlja kruška)	2006	52,45	± 1,62	39,72	± 1,05	20,85	± 1,35	0,92	± 0,03	11,68	± 0,38
PKB-K-234 (Divlja kruška)	2007	52,32	± 1,46	36,64	± 0,82	24,17	± 1,55	0,77	± 0,04	10,98	± 0,52
PKB-K-245 (Lisica)	2007	53,85	± 1,44	33,23	± 0,93	30,73	± 2,37	0,75	± 0,03	12,83	± 0,53
PKB-K-246 (Bogačnica)	2006	57,7	± 1,51	36,84	± 0,80	23,04	± 1,67	1	± 0,05	18,87	± 1,08
PKB-K-25 (Neponeto imo 2)	2006	60,03	± 1,76	40,06	± 1,23	16,75	± 0,98	0,95	± 0,03	17,94	± 0,88
PKB-K-25 (Neponeto imo 2)	2007	60,03	± 1,84	51,01	± 1,18	37,81	± 1,92	1,22	± 0,04	24,82	± 1,06
PKB-K-26 (Miravška)	2006	70,73	± 1,29	49,82	± 0,57	45,6	± 1,17	1,08	± 0,03	22	± 0,64
PKB-K-26 (Miravška)	2007	68	± 1,31	41,49	± 0,72	42,4	± 1,20	1,02	± 0,03	22,21	± 0,65
PKB-K-27 (Lubnjanika)	2006	66,96	± 2,13	44,73	± 1,03	45,88	± 2,09	1,01	± 0,03	22,29	± 1,16
PKB-K-27 (Lubnjanika)	2007	62,73	± 1,24	39,95	± 1,03	41,63	± 1,81	0,98	± 0,03	22,69	± 1,09
PKB-K-28 (Gospojinjaka)	2006	67,13	± 1,76	44,59	± 0,98	33,48	± 1,73	0,92	± 0,04	21,93	± 0,82
PKB-K-29 (Sareika)	2006	63,68	± 2,16	36,38	± 0,96	30,68	± 1,20	1,18	± 0,03	22,19	± 0,93
PKB-K-3 (Litenska ločljavica)	2006	67,74	± 1,44								

Karakterizacija germplazme kruške (*Pyrus communis* L.) u Bosni i Hercegovini

Tabela 8. Grupisanje BiH prinova kruške prema morfološkim karakteristikama lista (veoma mali, mali, mali do srednji i srednji)

Br.	Veoma mali	Mali	Mali do srednji	Srednji
1.	PKB-K-15 (Nepoznato stablo 3)	PKB-K-6 (Ilinjača)	PKB-K-1 (Izmirnska)	PKB-K-3 (Litrenjača)
2.		PKB-K-10 (Arapka crna)	PKB-K-2 (Karamut bijeli)	PKB-K-4 (Urumenka)
3.		PKB-K-11 (Zrnka)	PKB-K-5 (Duga bostanka)	PKB-K-7 (Karamut crni)
4.		PKB-K-13 (Avraška)	PKB-K-9 (Jeribasma)	PKB-K-8 (Batvača)
5.		PKB-K-19 (Kantaruša)	PKB-K-12 (Pšeničarka)	PKB-K-28 (Gospoinjača)
6.		PKB-K-20 (Citronka)	PKB-K-14 (Ječmenka)	PKB-K-30 (Karamut)
7.		PKB-K-22 (Čavka)	PKB-K-16 (Hošija)	PKB-K-31 (Sarevka)
8.		PKB-K-38 (Miholjača)	PKB-K-17 (Čađanka)	PKB-K-32 (Okrugla bostanka)
9.		PKB-K-142 (Batva)	PKB-K-18 (Jagodnjaca)	PKB-K-42 (Kantaruša)
10.		PKB-K-219 (Crnica)	PKB-K-21 (Kongresovka)	PKB-K-137 (Medenka)
11.		PKB-K-220 (Mednjaka)	PKB-K-23 (Mednica)	PKB-K-141 (Izmirnska)
12.		PKB-K-221 (Sijerak)	PKB-K-24 (Ljetna kolačuša)	PKB-K-145 (Karamut)
13.		PKB-K-222 (Šipača)	PKB-K-25 (Nepoznato ime 2)	
14.		PKB-K-223 (Ljetna kolačuša)	PKB-K-26 (Mirisavka)	
15.		PKB-K-224 (Karamut)	PKB-K-27 (Lubeničarka)	
16.		PKB-K-226 (Crna Miholjka)	PKB-K-29 (Sarajka)	
17.		PKB-K-228 (Takiša)	PKB-K-34 (Jesenja kolačuša)	
18.		PKB-K-233 (Miholjača)	PKB-K-35 (Glibanjka)	
19.		PKB-K-234 (Divlja kruška)	PKB-K-36 (Žutica)	
20.		PKB-K-236 (Kaurka)	PKB-K-37 (Bijela takiša)	
21.		PKB-K-240 (Sijerak)	PKB-K-40 (Nepoznato ime 2)	
22.		PKB-K-241 (Zimnjaka)	PKB-K-41 (Duplagica)	
23.		PKB-K-243 (Slavkova slatka)	PKB-K-98 (Kantaruša)	
24.		PKB-K-245 (Lisica)	PKB-K-138 (Stambolka)	
25.		PKB-K-246 (Begarmuta)	PKB-K-139 (Urumenka),	
26.			PKB-K-140 (Avraška)	
27.			PKB-K-143 (Duplagica)	
28.			PKB-K-146 (Lubeničarka)	
29.			PKB-K-225 (Šećernjača)	

Ovi rezultati su u skladu sa prethodnim studijama. U prethodnom istraživanju koje su proveli Kalkisim et al. (2018) analizirani su listovi germplazme kruške. Dužina lista je bila između 26,78 i 46,22 mm, širina lista je bila između 53,73 i 76,46 mm, dužina peteljke je bila između 11,80 i 52,74 mm, a širina između 0,70 i 1,09 mm. U ovom istraživanju dužina lista je bila između 33,46 i 85,04 mm, širina lista je bila između 28,75 i 59,93 mm, dužina peteljke je bila između 16,75 i 46,33 mm, a širina između 0,68 i 1,53 mm.

6.2.3 Cvjetanje

Tokom 2016., 2017. i 2018. godine vršena su fenološka praćenja cvjetanja prinova kruške u BiH kolekciji kruške.

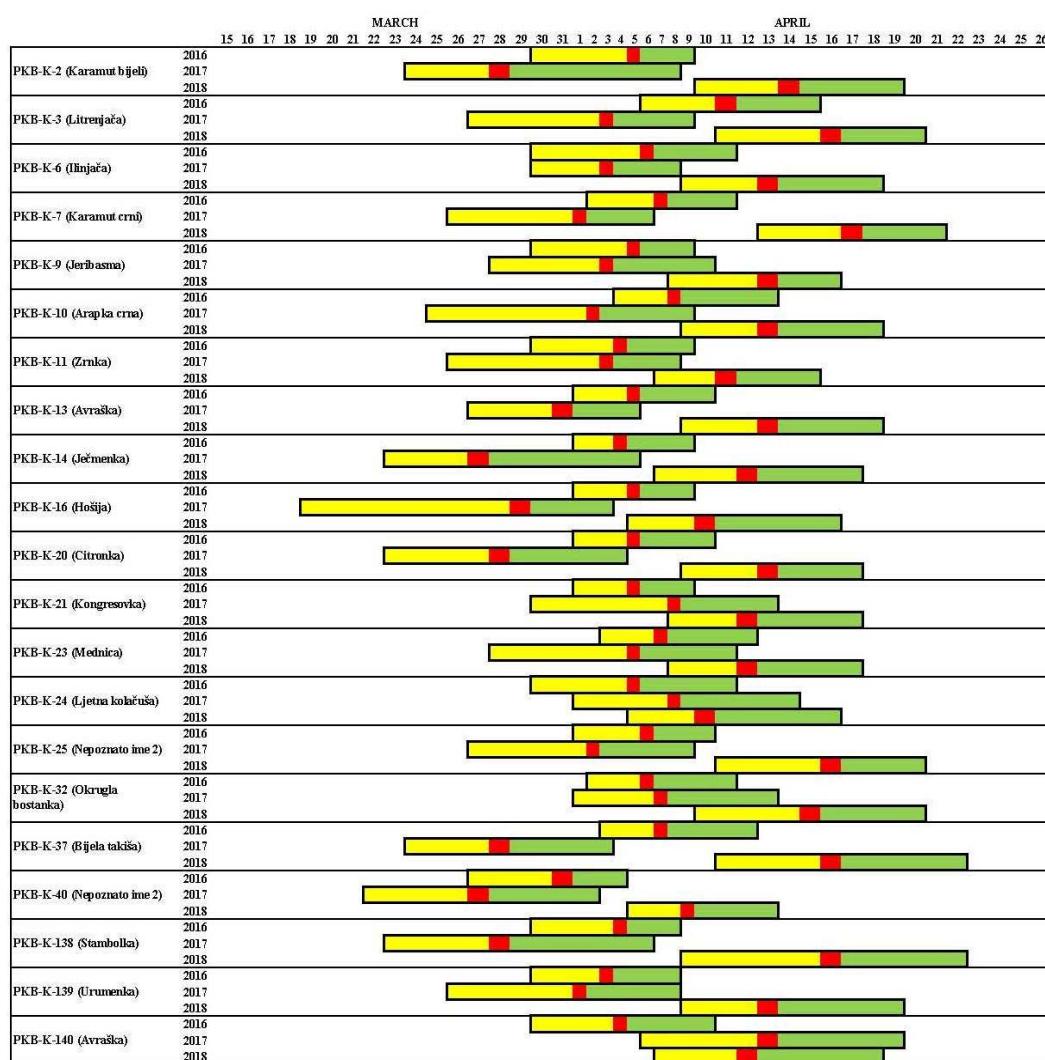
Cvjetanje prinova kruške je bilo veoma različito tokom ispitivanog perioda. Od 67 prinova, 21 je cvjetala tokom sve tri godine (Slika 6), 18 je cvjetalo tokom 2 godine (Slika 7) i 9 tokom jedne godine (Slika 8), dok 19 prinova nije cvjetalo tokom istraživanog perioda. Najveći broj cvjetajućih prinova je zabilježen u 2018. godini (44), manji broj u 2016. godini (33) i najmanji broj u 2017. godini (32). Tokom praćenja, korišćeni su parametri evaluacije po Meier-u (2001), u skladu sa kojima je početak cvjetanja definisan kada je oko 10% cvjetova otvoreno, puno cvjetanje kada je najmanje 50% cvjetova otvoreno i prve latice otpale, i precvjetavanje kada su otpale sve latice. Od 48 cvjetajućih prinova, najraniji početak cvjetanja je zabilježen 19. marta, puno cvjetanje 27. marta i kraj cvjetanja 3. aprila 2017. godine kod prinove PKB-K-16 (Hošija). Najkasniji početak cvjetanja je zabilježen 16. aprila, puno cvjetanje 20. aprila i precvjetavanje 28. aprila 2018. godine kod prinove PKB-K-137 (Medenka).

U ispitivanom periodu od tri godine početak cvjetanja je bio veoma različit. Prvi početak cvjetanja u 2016. godini je bio 27. marta (PKB-K-40, Nepoznato ime 2), u 2017. godini 19. marta (PKB-K-16 Hošija). U 2018. godini, prvi početak cvjetanja je bio 4. aprila (PKB-K-16 Hošija). Najkasniji početak cvjetanja u 2016. godini je bio 8. aprila (PKB-K-31 Sarevka), u 2017. godini 6. aprila (PKB-K-140 Avraška) i u 2018. godini 15. aprila.

Fenofaza punog cvjetanja u 2016. godini je počela 31. marta (PKB-K-40 Nepoznato ime 2), u 2017. godini 27. marta (PKB-K-40 Nepoznato ime 2), i u 2018. godini prvo puno cvjetanje je zabilježeno 9. aprila (PKB-K-40 Nepoznato ime 2). Najkasnije puno cvjetanje u 2016. godini je bilo 11. aprila (PKB-K-3 Litrenjača, PKB-K-31 Sarevka i PKB-K-41 Duplagica), u 2017. godini posljednje puno cvjetanje je bilo 8. aprila (PKB-K-21 Kongresovka i PKB-K-24 Ljetnja kolačuša) i u 2018. godini 20. aprila (PKB-K-137 Medenka).

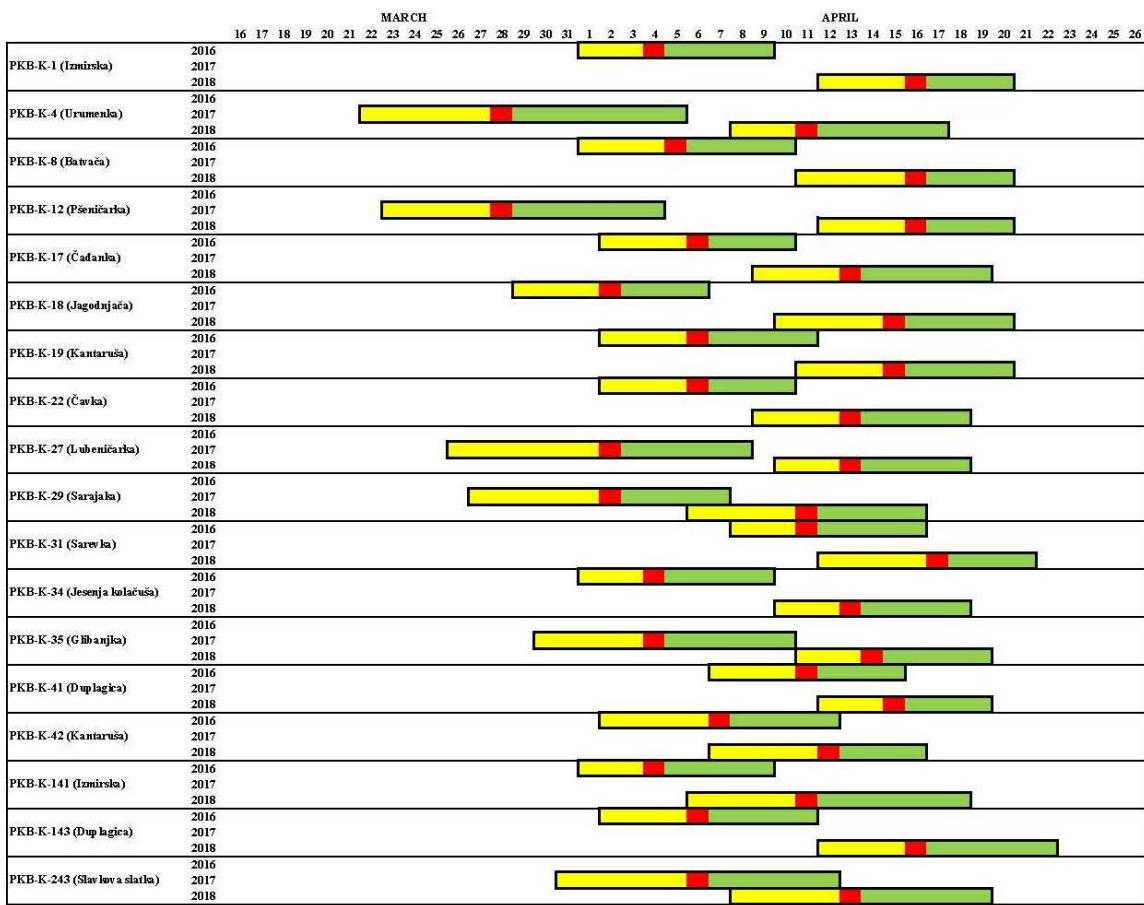
Fenofaza precvjetavanja tokom tri godine istraživanja je bila u aprilu za sve ispitivane obaveze. Najranije precvjetavanje u 2016. godini je zaabilježeno 4. aprila (PKB-K-40

Nepoznato ime 2), u 2017. godini 2. aprila (PKB-K-40 Nepoznato ime 2), i u 2018. godini 15. aprila (PKB-K-29 Sarajka). Najkasnije precvjetavanje u 2016. godini je bilo 16. aprila (PKB-K-31 Sarevka), u 2017. godini 19. aprila (PKB-K-140 Avraška) i u 2018. godini najkasnije precvjetavanje je bilo 25. aprila (PKB-K-137 Medenka).

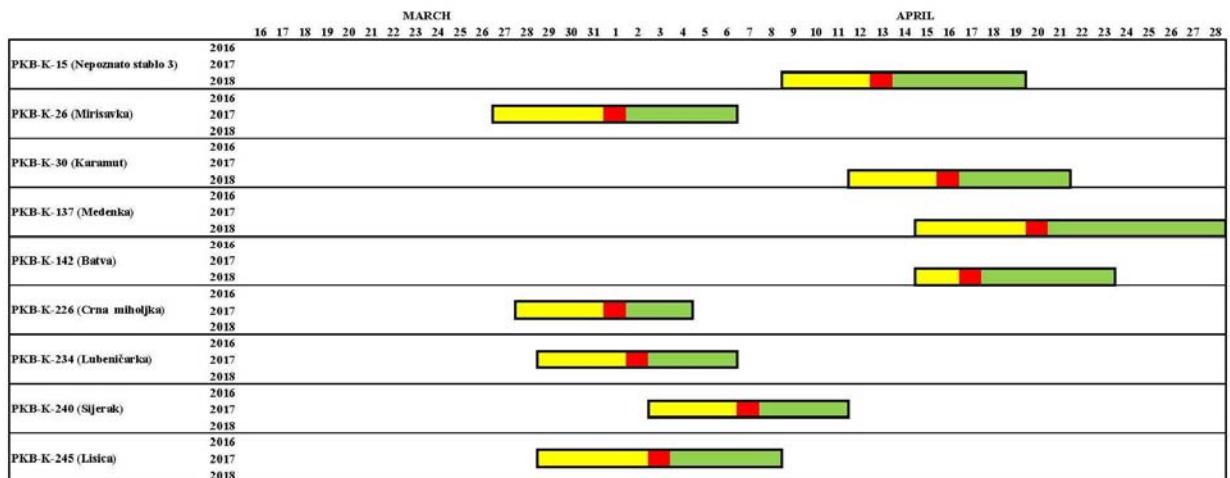


Slika 6. Cvjetanje BiH prinova kruške tokom tri godine (Yellow - početak cvjetanja; Red - puno cvjetanje; Green - precvjetavanje)

Karakterizacija germplazme kruške (*Pyrus communis* L.) u Bosni i Hercegovini



Slika 7. Cvjetanje BiH prinova kruške tokom dvije godine (■-početak cvjetanja; ■-red-puno cvjetanje; ■-precvjetavanje)



Slika 8. Cvjetanje BiH prinova kruške tokom jedne godine (■-početak cvjetanja; ■-red-puno cvjetanje; ■-precvjetavanje)

6.2.4 Plodonošenje

Plodonošenje prinova kruške tokom ispitivanog perioda od tri godine je bilo neujednačeno. U 2016. godini plodonošenje je zabilježeno na 9 prinova. Tokom 2017. godine plodonošenje je zabilježeno samo kod 4 prinove. U 2017. godini zabilježeno je najmanje plodonošenje tokom cijelog perioda ispitivanja. U 2018. godini zabilježeno je najveće plodonošenje, gdje je 30 prinova plodonosilo. Dvije prinove su plodonosile tokom sve tri godine posmatranja, 8 prinova tokom dvije godine i 20 prinova je plodonosilo u samo jednoj godini posmatranja.

U skladu sa IBGRI-jevim deskriptorima, prema vremenu dozrijevanja, prinove koje su plodonosile mogu biti preliminarno podijeljene u sljedeće grupe: ekstremno rane (16 prinova), veoma rane (2 prinova), rane (8 prinova) i srednje (4 prinove) (Tabela 9). Najranija prnova je PKB-K-14 (Ječmenka), dok je prnova PKB-K-10 (Arapka crna) najkasnija.

Tabela 9. Grupisanje BiH prinova kruške prema preliminarnom vremenu dozrijevanja

Br.	Ekstremno rane prinove	Veoma rane prinove	Rane prinove	Srednje rane prinove
1.	PKB-K-6 (Ilinjača)	PKB-K-32 (Okrugla bostanka)	PKB-K-20 (Citronka)	PKB-K-3 (Litrenjača)
2.	PKB-K-8 Batvača	PKB-K-141 (Izmiraska)	PKB-K-23 (Mednica)	PKB-K-10 (Arapka crna)
3.	PKB-K-14 (Ječmenka)		PKB-K-31 (Sarevka)	PKB-K-21 (Kongresovka)
4.	PKB-K-16 (Hošija)		PKB-K-34 (Jesenja kolačuša)	PKB-K-22 (Čavka)
5.	PKB-K-17 (Čađanka)		PKB-K-37 (Bijela takiša)	
6.	PKB-K-18 (Jagodnjakača)		PKB-K-137 (Medenka)	
7.	PKB-K-19 (Kantaruša)		PKB-K-140 (Avraška)	
8.	PKB-K-24 (Ljetna kolačuša)		PKB-K-142 (Batva)	
9.	PKB-K-25 (Nepoznato ime 2)			
10.	PKB-K-29 (Sarajka)			
11.	PKB-K-35 (Glibanjka)			
12.	PKB-K-40 (Nepoznato stablo 2)			
13.	PKB-K-41 (Duplagica)			
14.	PKB-K-138 (Stambolka)			
15.	PKB-K-139 (Urumenka)			
16.	PKB-K-143 (Duplagica)			

6.2.5 Cvjetanje i plodonošenje

Poredeći prinove koje su cvjetale i plodonosile tokom tri godine posmatranja, može se konstatovati da je njih 30 od 67 dalo plodove. U 2016. godini cvjetanje je zabilježeno na 33 prinove, dok je 9 njih plodonosilo. U 2017. godini cvjetanje je zabilježeno na 32 prinove, od čega su 4 plodonosile. U 2018. godini cvjetanje je zabilježeno na 44 prinove, a plodonošenje je zabilježeno na 30 prinova. Najslabije cvjetanje i plodonošenje je bilo u 2017. godini, a najveće u 2018. U tabeli 10 nalaze se informacije o punom cvjetanju BiH prinova kruške, koje su dale plodove tokom ispitivanog perioda, uz određivanje njihovog perioda dozrijevanja.

Tabela 10. Puno cvjetanje i vrijeme dozrijevanja BiH prinova kruške u trogodišnjem periodu (2016., 2017. i 2018.)

Br.	Puno cvjetanje (projek)	Plodonošenje (prinove koje su plodonosile u ispitivanom periodu)	Vrijeme dozrijevanja
1.	10. april	PKB-K-3 (Litrenjača)	srednje
2.	7. april	PKB-K-6 (Ilinjača)	ekstremno rano
3.	10. april	PKB-K-8 Batvača	ekstremno rano
4.	8. april	PKB-K-10 (Arapka crna)	srednje
5.	6. april	PKB-K-14 (Ječmenka)	ekstremno rano
6.	5. april	PKB-K-16 (Hošija)	ekstremno rano
7.	9. april	PKB-K-17 (Čađanka)	ekstremno rano
8.	8. april	PKB-K-18 (Jagodnjača)	ekstremno rano
9.	10. april	PKB-K-19 (Kantaruša)	ekstremno rano
10.	6. april	PKB-K-20 (Citronka)	rano
11.	8. april	PKB-K-21 (Kongresovka)	srednje
12.	9. april	PKB-K-22 (Čavka)	srednje
13.	8. april	PKB-K-23 (Mednica)	rano
14.	7. april	PKB-K-24 (Ljetna kolačuša)	ekstremno rano
15.	7. april	PKB-K-25 (Nepoznato ime 2)	ekstremno rano
16.	6. april	PKB-K-29 (Sarajka)	ekstremno rano
17.	13. april	PKB-K-31 (Sarevka)	rano
18.	10. april	PKB-K-32 (Okrugla bostanka)	veoma rano
19.	8. april	PKB-K-34 (Jesenja kolačuša)	rano
20.	9. april	PKB-K-35 (Glibanjka)	ekstremno rano
21.	6. april	PKB-K-37 (Bijela takiša)	rano
22.	2. april	PKB-K-40 (Nepoznato stablo 2)	ekstremno rano
23.	13. april	PKB-K-41 (Duplagica)	ekstremno rano
24.	20. april	PKB-K-137 (Medenka)	rano
25.	6. april	PKB-K-138 (Stambolka)	ekstremno rano
26.	7. april	PKB-K-139 (Urumenka)	ekstremno rano
27.	8. april	PKB-K-140 (Avraška)	rano
28.	7. april	PKB-K-141 (Izmirska)	veoma rano
29.	17. april	PKB-K-142 (Batva)	rano
30.	11. april	PKB-K-143 (Duplagica)	ekstremno rano

6.3. Morfo-pomološke karakteristike plodova BiH prinova kruške

6.3.1 Osnovna i dopunska boja ploda, prisustvo rđe na pokožici ploda

Osnovna boja plodova kruške je bila žuta, zelenožuto i zelena. Žuta osnovna boja je zabilježena kod 16,7 % plodova i najmanje je zastupljena boja kod ispitivanih prinova. Zelena osnovna boja je zabilježena kod 40% prinova, žuta kod 16,7%, a zelenožuta boja je naviše zastupljena i zabilježena je kod 43,3% prinova kruške (Tabela 11).

Tabela 11. Grupisanje BiH prinova kruške na osnovu osnovne i dopunske boje ploda

Br.	Osnovna boja			Dopunska boja			
	Žuta	Zelenožuta	Zelena	Narandžasta	Crvena	Ružičastocrvena	Tamnocrvena
1.	PKB-K-6 (Ilinjača)	PKB-K-8 (Batvača)	PKB-K-3 (Litrenjača)	PKB-K-16 (Hošija)	PKB-K-17 (Čađanka)	PKB-K-29 (Sarajka)	PKB-K-40 (Nepoznato ime 2)
2.	PKB-K-21 (Kongresovka)	PKB-K-14 (Ječemnka)	PKB-K-10 (Arapka crna)	PKB-K-139 (Urumenka)	PKB-K-18 (Jagodnjača)	PKB-K-32 (Okrugla bostanka)	
3.	PKB-K-22 (Čavka)	PKB-K-16 (Hošija)	PKB-K-17 (Čađanka)	PKB-K-140 (Avraška)	PKB-K-19 (Kantaruša)	PKB-K-139 (Urumenka)	
4.	PKB-K-25 (Nepoznato ime 2)	PKB-K-18 (Jagodnjača)	PKB-K-19 (Kantaruša)		PKB-K-21 (Kongresovka)		
5.	PKB-K-34 (Jesenja kolačuša)	PKB-K-20 (Citronka)	PKB-K-24 (Ljetnja kolačuša)		PKB-K-22 (Čavka)		
6.		PKB-K-23 (Mednica)	PKB-K-32 (Okrugla bostanka)		PKB-K-24 (Ljetnja kolačuša)		
7.		PKB-K-29 (Sarajka)	PKB-K-35 (Glibanjka)				
8.		PKB-K-31 (Sarevka)	PKB-K-37 (Bijela takiša)				
9.		PKB-K-40 (Nepoznato ime 2)	PKB-K-137 (Medenka)				
10.		PKB-K-41 (Duplagica)	PKB-K-139 (Urumenka)				
11.		PKB-K-138 (Stambolka)	PKB-K-140 (Avraška)				
12.		PKB-K-141 (Izmirska)	PKB-K-142 (Batva)				
13.		PKB-K-143 (Duplagica)					

Zabilježen je raspon dopunske boje: narandžasta, crvena, ružičastocrvena i tamnocrvena (Tabela 11). Dopunska boja je bila odsutna kod 56,7% prinova: PKB-K-3 (Litrenjača), PKB-

K-6 (Ilinjača), PKB-K-8 (Batvača), PKB-K-10 (Arapka crna), PKB-K-14 (Ječemnka), PKB-K-20 (Citronka), PKB-K-21 (Kongresovka), PKB-K-25 (Nepoznato ime 2), PKB-K-31 (Sarevka), PKB-K-34 (Jesenja kolačuša), PKB-K-35 (Glibanjka), PKB-K-37 (Bijela takiša), PKB-K-41 (Duplagica), PKB-K-137 (Medenka), PKB-K-141 (Izmirska), PKB-K-142 (Batva) i PKB-K-143 (Duplagica). Kod ostalih 43,3%, najzastupljenija dopunska boja je crvena (19,98%), zatim narandžasta dopunska boja (9,99%), i ružičastocrvena dopunska boja (9,99%). U ovom istraživanju, samo jedna prinova PKB-K-40 (Nepoznato ime 2) je imala tamnocrvenu dopunsku boju (3,33%).

Prisustvo rde na pokožici ploda je zabilježeno na svim plodovima. Raspon rde na pokožici ploda je bio: veoma nizak (36,7% prinova), smanjen (20% prinova), smanjen do srednji (16,7 % prinova), srednji (13,3% prinova) i visok (13,3% prinova).

Tabela 12. Grupisanje BiH prinova kruške prema prisustvu rde na pokožici ploda

Br.	Veoma nizak	Nizak	Smanjen do srednji	Srednji	Visok
1.	PKB-K-14 (Ječemnka)	PKB-K-6 (Ilinjača)	PKB-K-21 (Kongresovka)	PKB-K-8 (Batvača)	PKB-K-3 (Litrenjača)
2.	PKB-K-16 (Hošija)	PKB-K-17 (Čađanka)	PKB-K-22 (Čavka)	PKB-K-10 (Arapka crna)	PKB-K-20 (Citronka)
3.	PKB-K-29 (Sarajka)	PKB-K-18 (Jagodnjača)	PKB-K-31 (Sarevka)	PKB-K-25 (Nepoznato ime 2)	PKB- K-34 (Jesenja kolačuša)
4.	PKB-K-32 (Okrugla bostanka)	PKB-K-19 (Kantaruša)	PKB-K-37 (Bijela takiša)	KB-K-35 (Glibanjka)	PKB-K-141 (Izmirska)
5.	PKB-K-41 (Duplagica)	PKB-K-23 (Mednica)	PKB-K-40 (Nepoznato ime 2)		
6.	PKB-K-137 (Medenka)	PKB-K-24 (Ljetnja kolačuša)			
7.	PKB-K-138 (Stambolka)				
8.	PKB-K-139 (Urumenka)				
9.	PKB-K-140 (Avraška)				
10.	PKB- K-142 (Batva)				
11.	PKB-K-143 (Duplagica)				

6.3.2 Peteljka ploda i peteljkino udubljenje

U skladu sa deskriptorom za krušku (Szalatnay, 2006), prinove kruške su podijeljene na osnovu dužine peteljke u sljedeće grupe (Tabela 13): kratka (prosječna dužina 15-24 mm), srednja (prosječna dužina 25-34 mm), duga (prosječna dužina 35-44 mm) i veoma duga (prosječna dužina veća od 45 mm).

Tabela 13. Grupisanje BiH prinova kruške prema dužini peteljke

Br.	Kratka	Srednje duga	Duga	Veoma duga
1.	PKB-K-8 (Batvača)	PKB-K-10 (Arapka crna)	PKB-K-3 (Litrenjača)	PKB-K-25 (Nepoznato ime 2)
2.	PKB-K-17 (Čađanka)	PKB-K-14 (Ječemnka)	PKB-K-6 (Ilinjača)	PKB-K-41 (Duplagica)
3.	PKB-K-18 (Jagodnjača)	PKB-K-16 (Hošija)	PKB-K-19 (Kantaruša)	PKB-K-143 (Duplagica)
4.	PKB-K-35 (Glibanjka)	PKB-K-21 (Kongresovka)	PKB-K-20 (Citronka)	
5.	PKB-K-141 (Izmirska)	PKB-K-23 (Mednica)	PKB-K-22 (Čavka)	
6.		PKB-K-24 (Ljetnja kolačuša)	PKB-K-29 (Sarajka)	
7.		PKB-K-31 (Sarevka)	PKB-K-32 (Okrugla bostanka)	
8.		PKB-K-34 (Jesenja kolačuša)	PKB-K-140 (Avraška)	
9.		PKB-K-37 (Bijela takiša)	PKB-K-142 (Batva)	
10.		PKB-K-40 (Nepoznato ime 2)		
11.		PKB-K-137 (Medenka)		
12.		PKB-K-138 (Stambolka)		
13.		PKB-K-139 (Urumenka)		

U skladu sa navedenim deskriptorom (Szalatnay, 2006), prinove kruške se mogu podijeliti u tri grupe na osnovu širine peteljke (debljine) za sve analizirane plodove. Prvu grupu čine prinove sa tankom peteljkom, čija je širina manja od 2 mm (1 prnova). Druga grupa uključuje prinove sa srednje debelom peteljkom čija je širina 2-3 mm (16 prinova), treća grupa uključuje prinove sa debelom peteljkom, više od 3 mm širine (13 prinova). Najveća širina peteljke je zabilježena kod prinove PKB-K-8 (Batvača) 5,03 mm, dok je najmanja širina peteljke zabilježena kod prinove PKB-K-14 (Ječmenka) sa 1,72 mm (Tabela 14).

Svi plodovi su analizirani u cilju određivanja peteljkog udubljenja. Ukupno pet oblika peteljkog udubljenja je zabilježeno kod BiH prinova kruške: odsutno, veoma plitko, srednje, duboko i veoma duboko. Najzastupljeniji oblik peteljkog udubljenja je srednji (33,3%) i veoma plitak (30%). Odsustvo peteljkog udubljenja je zabilježeno kod 20% prinova, dok je dubok oblik zabilježen kod 13,4% i veoma dubok kod 3,3%.

6.3.3 Relativna veličina ploda

U skladu sa prosječnom težinom ploda, BiH prinove kruške koje su plodonosile mogu se podjeliti u 4 grupe. U prvoj grupi su prinove sa prosječnom težinom većom od 200 g. Samo dvije prinove su u ovoj grupi, PKB-K-141 (Izmirska) i PKB-K-10 (Arapka crna), koja je istovremeno i prinova sa najvećom težinom ploda (273,07 g). Drugu grupu čine prinove sa težinom ploda između 100 g i 200 g (7 prinova), dok treću grupu čine prinove sa težinom između 50-100 g (17 prinova) i četvrtu grupu čine prinove sa težinom ploda između 10-50 g (4 prinove) (Tabela 14). Najveća težina ploda je zabilježena kod PKB-K-10 (Arapka crna) 273,07 g, dok je najmanje kod PKB-K-14 (Ječmenka), sa 13,98 g.

Tabela 14. Srednje vrijednosti i standardna greška ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$) za sledeće karakteristike ploda BiH prinova kruške: masa, dužina i širina ploda, širina peteljke, dužina peteljke, °Brix i tvrdoća ploda (crveno polje-najveće vrijednosti, žuto polje-najmanje vrijednosti)

genotip	masa ploda [g]			dužina ploda [mm]			širina ploda [mm]			dužina peteljke [mm]			širina peteljke [cm ²]			brix [deg]			tvrdoća ploda [N cm ⁻²]		
	\bar{X}	\pm	$S_{\bar{X}}$	\bar{X}	\pm	$S_{\bar{X}}$	\bar{X}	\pm	$S_{\bar{X}}$	\bar{X}	\pm	$S_{\bar{X}}$	\bar{X}	\pm	$S_{\bar{X}}$	\bar{X}	\pm	$S_{\bar{X}}$	\bar{X}	\pm	$S_{\bar{X}}$
PKB-K-10 (Arapka crna)	273,07	±	42,85	81,65	±	1,66	32,01	±	3,49	33,74	±	4,99	3,21	±	0,13	13,53	±	0,79	5,23	±	1,76
PKB-K-137 (Medenka)	93,82	±	3,83	50,38	±	1,34	54,19	±	1,07	30,64	±	2,98	3,03	±	0,10	17,48	±	0,37	9,48	±	0,38
PKB-K-138 (Stambolka)	149,39	±	8,20	74,66	±	1,97	65,50	±	1,50	34,67	±	3,07	3,67	±	0,15	14,09	±	0,79	5,90	±	0,41
PKB-K-139 (Urumenka)	60,96	±	3,39	47,61	±	1,20	48,63	±	1,19	34,25	±	3,48	2,29	±	0,09	15,14	±	0,34	4,07	±	0,38
PKB-K-14 (Ječmenka)	13,98	±	0,36	28,33	±	0,43	30,49	±	0,34	34,77	±	2,31	1,72	±	0,05	13,27	±	0,19	4,93	±	0,39
PKB-K-140 (Avraška)	97,08	±	4,48	51,51	±	0,88	58,11	±	1,09	39,90	±	2,68	2,66	±	0,06	12,23	±	0,88	4,64	±	0,30
PKB-K-141 (Izmirska)	200,87	±	14,09	80,05	±	2,03	70,90	±	1,99	24,34	±	1,72	3,67	±	0,10	13,18	±	0,23	5,56	±	0,33
PKB-K-142 (Batva)	76,07	±	3,64	43,68	±	1,24	52,15	±	1,18	44,59	±	3,03	2,46	±	0,15	13,10	±	0,45	2,68	±	0,31
PKB-K-143 (Duplatica)	87,15	±	5,40	52,05	±	0,91	55,24	±	1,55	52,90	±	2,26	3,05	±	0,11	11,68	±	0,27	4,35	±	0,29
PKB-K-16 (Hošnja)	59,07	±	2,96	65,35	±	1,27	44,16	±	0,63	34,77	±	2,31	2,02	±	0,24	13,85	±	0,12	5,47	±	0,35
PKB-K-17 (Čađanka)	94,42	±	4,25	56,68	±	1,07	56,38	±	0,93	20,37	±	1,28	3,11	±	0,12	14,18	±	0,30	4,21	±	0,36
PKB-K-18 (Jagodnjica)	61,46	±	3,80	77,63	±	4,97	44,11	±	0,97	24,66	±	1,78	3,04	±	0,11	13,34	±	0,88	3,56	±	0,17
PKB-K-19 (Kantarusa)	40,96	±	2,25	63,19	±	2,90	40,77	±	0,62	39,09	±	1,48	2,35	±	0,13	12,75	±	0,74	9,00	±	0,52
PKB-K-20 (Citronka)	171,74	±	13,75	78,77	±	1,82	66,77	±	1,90	36,68	±	1,37	3,12	±	0,15	13,30	±	0,34	5,55	±	0,67
PKB-K-21 (Kongresovka)	141,57	±	3,26	85,31	±	1,48	59,64	±	0,82	29,90	±	2,37	2,81	±	0,15	14,58	±	0,60	6,63	±	0,32
PKB-K-22 (Čavka)	34,96	±	2,42	44,85	±	1,58	38,14	±	1,10	36,01	±	1,83	2,74	±	0,19	18,52	±	0,56	3,72	±	1,07
PKB-K-23 (Medinica)	76,98	±	4,79	49,61	±	1,80	54,61	±	0,83	32,40	±	2,09	2,91	±	0,09	13,72	±	0,48	5,34	±	0,39
PKB-K-24 (Ljetna kolačuša)	67,85	±	1,56	66,21	±	1,38	49,98	±	2,28	26,39	±	1,85	2,00	±	0,07	15,09	±	0,45	4,31	±	0,62
PKB-K-25 (Nepoznato ime 2)	51,00	±	3,50	46,70	±	1,18	44,63	±	1,06	47,14	±	1,60	2,68	±	0,05	15,03	±	0,28	3,67	±	0,18
PKB-K-29 (Sarajka)	88,04	±	4,80	60,64	±	1,10	55,26	±	1,38	41,54	±	3,07	3,13	±	0,11	14,92	±	0,24	5,27	±	0,60
PKB-K-3 (Litrenjača)	103,11	±	8,20	70,61	±	3,11	53,38	±	1,86	42,69	±	2,59	2,84	±	0,14	17,63	±	0,73	10,70	±	0,69
PKB-K-31 (Sarevka)	105,77	±	5,11	51,51	±	0,81	57,61	±	1,29	31,21	±	1,81	3,13	±	0,10	16,71	±	0,31	7,36	±	1,25
PKB-K-32 (Okrugla bostanka)	81,68	±	3,11	53,69	±	1,60	53,92	±	0,70	39,54	±	1,01	2,78	±	0,06	11,68	±	0,52	8,43	±	0,53
PKB-K-34 (Jesenja kolačuša)	63,15	±	4,18	43,42	±	1,73	52,11	±	1,32	29,82	±	1,61	3,23	±	0,10	13,79	±	0,36	5,04	±	0,42
PKB-K-35 (Glibanika)	150,14	±	14,20	72,41	±	3,61	65,82	±	2,91	18,27	±	1,99	4,15	±	0,15	11,41	±	0,37	7,80	±	0,94
PKB-K-37 (Bijela takiša)	24,71	±	2,36	27,23	±	0,99	37,53	±	1,32	33,53	±	0,69	2,39	±	0,14	14,55	±	0,44	5,57	±	0,79
PKB-K-40 (Nepoznato ime 2)	76,33	±	4,04	47,49	±	1,31	54,64	±	0,87	29,24	±	1,32	2,88	±	0,09	12,34	±	0,41	4,43	±	0,58
PKB-K-41 (Duplatica)	74,02	±	3,56	55,21	±	1,02	51,74	±	1,05	46,13	±	2,36	2,74	±	0,08	11,52	±	0,17	5,67	±	0,35
PKB-K-6 (Ilinjača)	86,22	±	8,24	62,39	±	2,85	51,28	±	2,24	41,85	±	3,98	2,77	±	0,08	14,60	±	0,78	6,80	±	0,83
PKB-K-8 Batvača	193,26	±	18,05	83,01	±	2,87	70,37	±	2,21	22,33	±	2,06	5,03	±	0,36	13,40	±	0,50	4,96	±	0,34
F _{genotip}	F=27,26, p<0,001			F=47,59, p<0,001			F=25,83, p<0,001			F=11,59, p<0,001			F=16,36, p<0,001			F=12,23, p<0,001			F=9,92, p<0,001		

Prema dužini plodova ispitivane BiH prinove kruške mogu se podijeliti u tri grupe. Prva grupa se sastoji od prinova sa dužinom ploda između 20 i 40 mm (2 prinova), druga grupa se sastoji od prinova sa dužinom ploda između 40 i 60 mm (14 prinova), i treća grupa se sastoji od prinova sa dužinom ploda između 60 i 85 mm (14 prinova) (Tabela 14). Prinova sa najvećom dužinom ploda je PKB-K-21 (Kongresovka) sa 85,31 mm, a prinova sa najmanjom zabilježenom dužinom ploda je prinova PKB-K-37 (Bijela takiša) sa 27,23 mm.

Analizirana je i širina ploda. U skladu sa rezultatima, prinove možemo podijeliti u tri grupe. Prvu grupu čine prinove sa širinom ploda od 30 do 50 mm (ukupno 9 prinova), drugu grupu čine prinove sa širinom ploda od 50 do 70 mm (18 prinova) i treću grupu čine prinove čija je širina ploda između 70 i 82,01 mm (3 prinove) (Tabela 14). Najveća širina ploda je zabilježena kod prinove PKB-K-10 (Arapka crna), 82,01 mm, a najmanja širina ploda kod prinove PKB-K-37 (Bijela takiša) 37,53 mm.

U skladu sa dobijenim podacima za parametre mase, dužine i širine ploda, izvršena je podjela plodova prema relativnoj veličini u sljedeće grupe: veoma mali plod, mali plod, mali do srednji plod, srednji plod i veliki plod (Tabela 15) (Thibault, 1983).

Tabela 15. Grupisanje BiH prinova kruške prema relativnoj veličini ploda

Br.	Veoma mali plod	Mali plod	Mali do srednji plod	Srednji plod	Veliki plod
1.	PKB-K-14 (Ječemnka)	PKB-K-19 (Kantaruša)	PKB-K-6 (Ilinjača)	PKB-K-3 (Litrenjača)	PKB-K-10 (Arapka crna)
2.		PKB-K-22 (Čavka)	PKB-K-16 (Hošnja)	PKB-K-8 (Batvača)	PKB-K-141 (Izmirska)
3.		PKB-K-37 (Bijela takiša)	PKB-K-17 (Čađanka)	PKB-K-20 (Citronka)	
4.			PKB-K-18 (Jagodnjača)	PKB-K-21 (Kongresovka)	
5.			PKB-K-23 (Mednica)	PKB-K-31 (Sarevka)	
6.			PKB-K-24 (Ljetnja kolačuša)	PKB-K-35 (Glibanjka)	
7.			PKB-K-25 (Nepoznato ime 2)	PKB-K-138 (Stambolka)	
8.			PKB-K-29 (Sarajka)		
9.			PKB-K-32 (Okrugla bostanka)		
10.			PKB-K-34 (Jesenja kolačuša)		
11.			PKB-K-40 (Nepoznato ime 2)		
12.			PKB-K-41 (Duplagica)		
13.			PKB-K-137 (Medenka)		
14.			PKB-K-139 (Urumenka)		
15.			PKB-K-140 (Avraška)		
16.			PKB-K-142 (Batva)		
17.			PKB-K-143 (Duplagica)		

6.3.4 Sadržaj rastvorljive suve materije u čelijskom soku mesa ploda

Podaci za sadržaj rastvorljive suve materije u čelijskom soku mesa ploda ($^{\circ}$ Brix) dati su u tabeli 14. Prosječne vrijednosti su se kretale između 11,41 $^{\circ}$ Brix (PKB-K-35 Glibanjka) i 18,52 $^{\circ}$ Brix (PKB-K-22 Čavka). Posmatrane prinove kruške mogu se podijeliti u tri grupe:

1. Prinove sa srednjim sadržajem rastvorljive suve materije u čelijskom soku mesa ploda između 11,41-13,75 $^{\circ}$ Brix (17 prinova);
2. Prinove sa povećanim sadržajem rastvorljive suve materije u čelijskom soku mesa ploda između 14,09-15,14 $^{\circ}$ Brix (9 prinova);
3. Prinove sa visokim sadržajem rastvorljive suve materije u čelijskom soku mesa ploda između 16,71-18,52 $^{\circ}$ Brix (4 prinove).

Većina prinova imala je srednju vrijednost sadržaja rastvorljive suve materije u čelijskom soku mesa ploda (17 prinova), zatim prinove sa povećanim sadržajem rastvorljive suve materije u čelijskom soku mesa ploda (9) i prinove sa visokim sadržajem rastvorljive suve materije u čelijskom soku mesa ploda (4). U dosadašnjem istraživanju prinova kruške u BiH koje su sproveli Đurić et al. (2014), zabilježene su prinove sa visokim sadržajem rastvorljive suve materije u čelijskom soku mesa ploda koje predstavljaju pogodne genotipove za proizvodnju rakije.

6.3.5 Tvrdoća mesa ploda

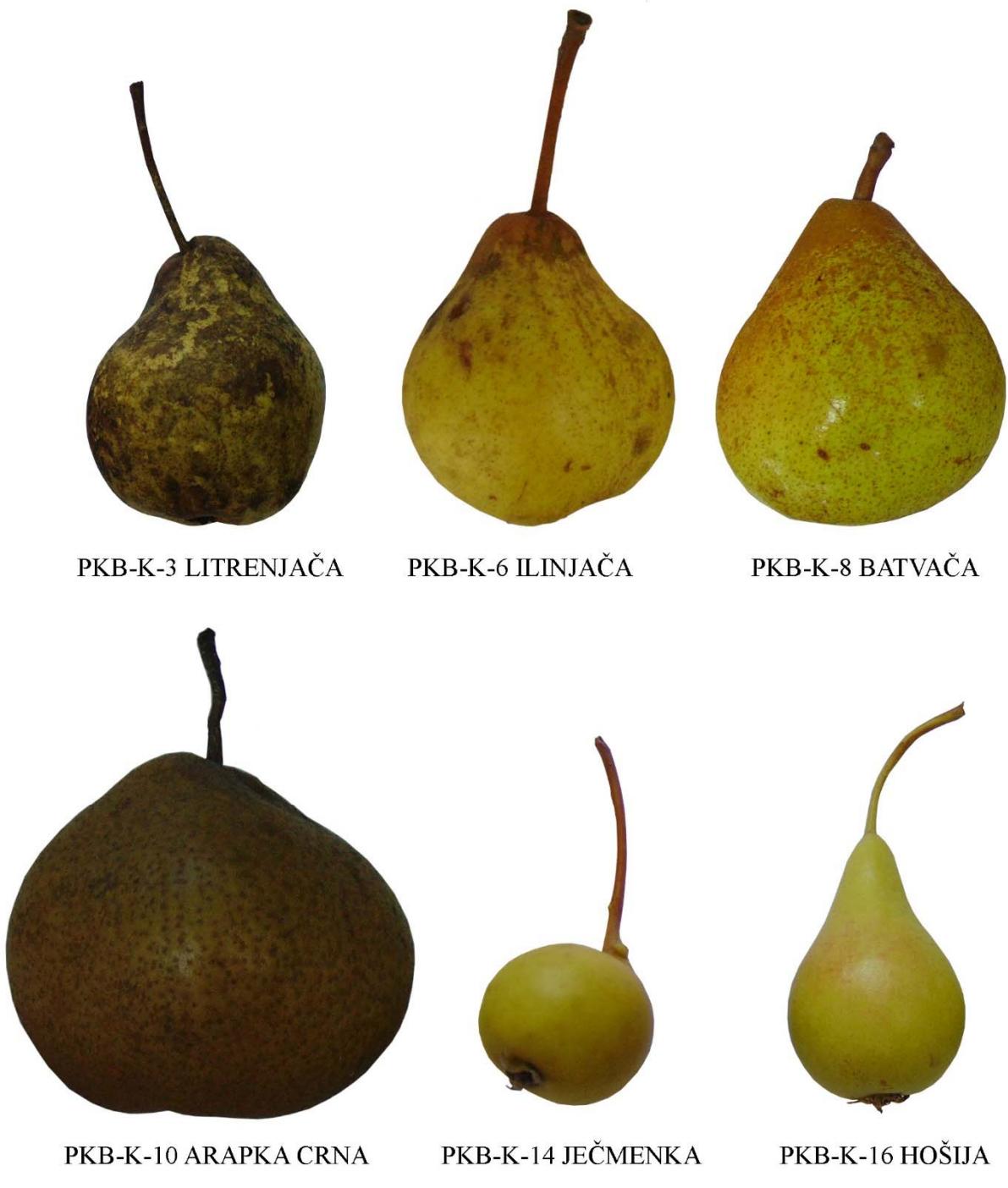
Prosječne vrijednosti tvrdoće mesa ploda analiziranih prinova kretale su se od 2,68 do 10,70 kg/cm². Prema dobijenim rezultatima (tabela 14) plodovi se mogu podijeliti u sljedeće grupe:

1. Prinove sa mekim mesom ploda – srednje vrijednosti tvrdoće između 2,68-4,96 kg/cm² (12 prinova);
2. Prinove sa srednje mekim mesom ploda – srednje vrijednosti tvrdoće između 5,04-6,80 kg/cm² (12 prinova);
3. Prinove sa srednje tvrdim mesom ploda – srednje vrijednosti tvrdoće između 7,34-7,80 kg/cm² (2 prinove);
4. Prinove sa tvrdim mesom ploda – srednje vrijednosti tvrdoće između 8,43-9,48 kg/cm² (3 prinove);
5. Prinove sa vrlo tvrdim mesom ploda – srednje vrijednosti tvrdoće više od 10 kg/cm² (1 prinova).

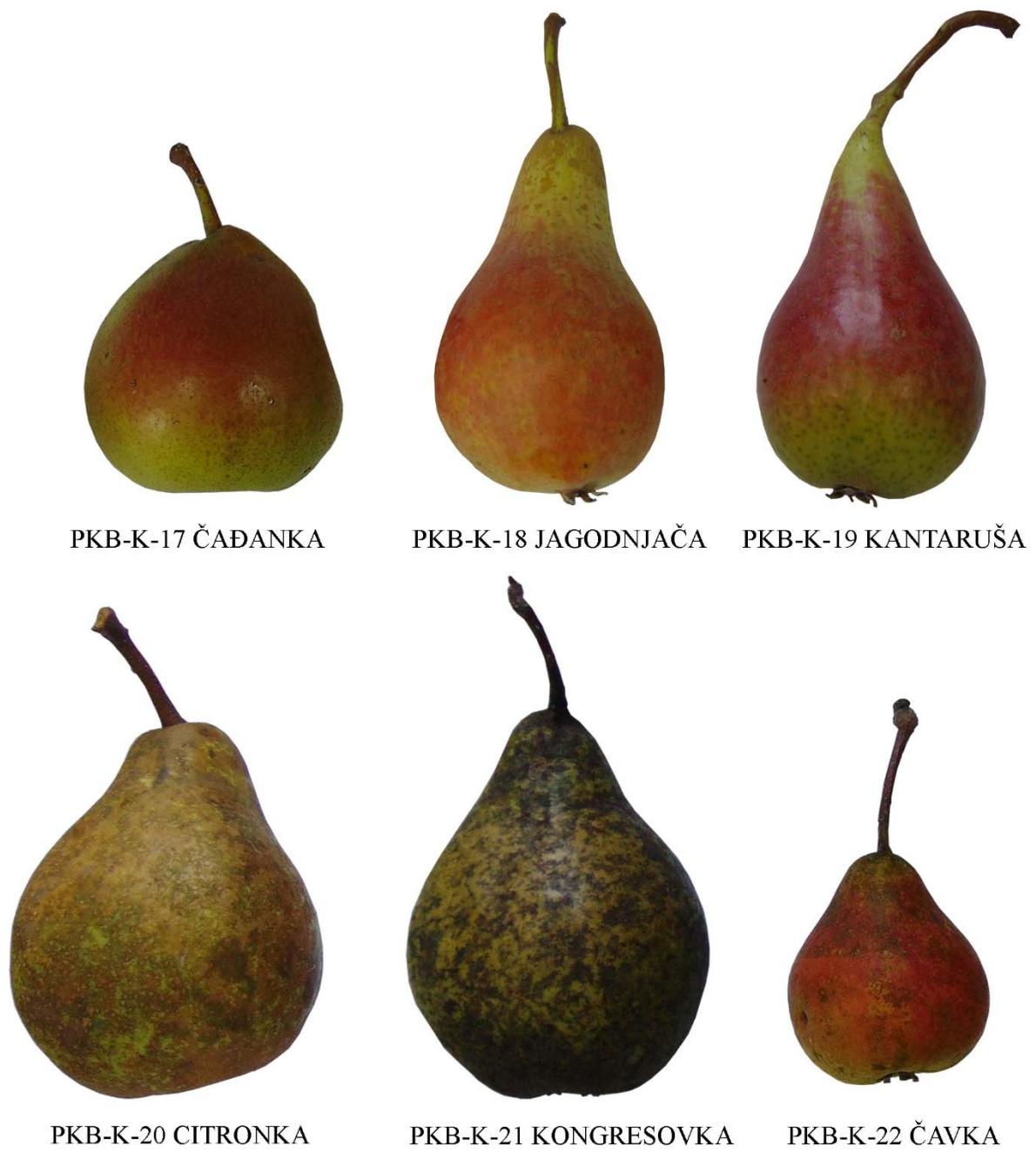
Rezultati pokazuju značajne razlike između prinova. Može se zaključiti da je većina prinova bila sa mekim mesom ploda (12 prinova) i srednje mekim mesom ploda (12 prinova).

U grupi sa mekim mesom ploda su prinove PKB-K-18 (Jagodnjača) i PKB-K-140 (Avraška) koje imaju veoma dobar kvalitet ploda i stoga se preporučuju za organsku proizvodnju (Beširević, 2009). Takođe, u grupi sa srednje mekim mesom ploda je prinova PKB-K-143 (Duplagica), koja se takođe preporučuje za organsku proizvodnju zbog dobrog kvaliteta ploda (Beširević, 2009). Zabilježene su tri prinove sa tvrdim mesom ploda, dvije sa srednje tvrdim i samo jedna sa vrlo tvrdim mesom ploda. U prethodnim pomološkim istraživanjima germplazme kruške u BiH formirane su iste grupe prema tvrdoći ploda (Đurić et al., 2014; Đurić et al., 2015b). Pomološke karakteristike prinova kruške u BiH pokazale su značajne razlike koje predstavljaju izvor gena za selekciju.

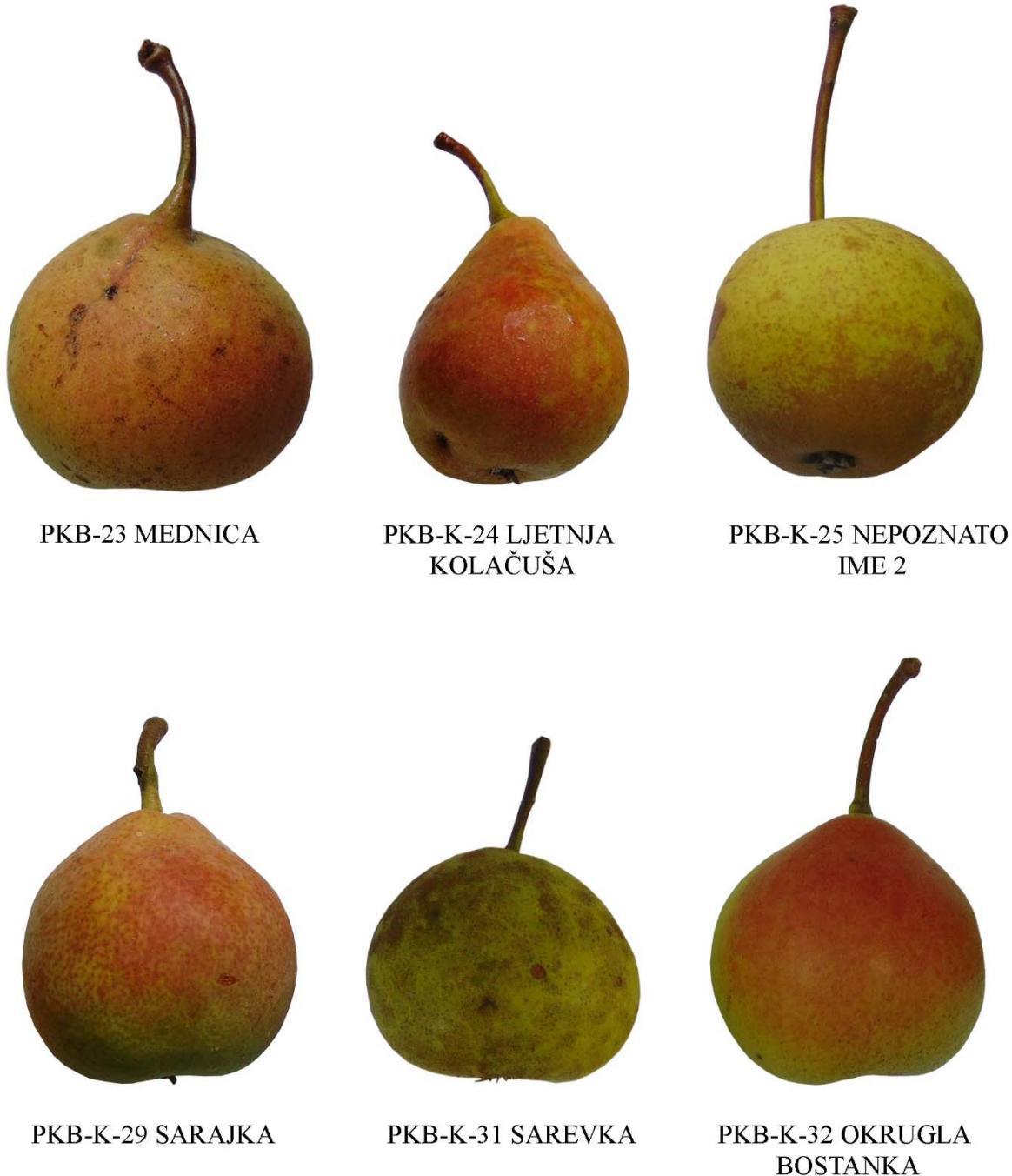
Karakteristike plodova nekih tradicionalnih sorti kruške u regionu Prespa (jugozapadna Makedonija) ocjenjivali su Selamovska et al. (2015). Oni su primjetili da su ispitivane sorte veoma raznovrsne, gdje je npr. masa plodova varirala između 60 i 165,5 g, dok je dužina peteljke varirala između 1,6 i 3,3 mm. Morfo-pomološki diverzitet turskih prinova kruške (*Pyrus communis* L.) u istočnom mediteranskom regionu Turske sproveli su Bayazit et al. (2016). U njihovoј analizi, težina ploda je bila između 28,29 i 160,02 g, širina ploda je bila između 34,11 i 68,27 mm, dužina ploda između 33,11 i 72,02 mm, dužina peteljke je bila između 14,75 i 42,30 mm i širina peteljke između 2,13 i 10,26 mm. U istraživanju germplazme kruške u BiH, Đurić et al. (2014) utvrdili su da su vrijednosti mase ploda bile između 13,98 i 273,07 g, dužine ploda između 27,23 i 83,01 mm i širine ploda između 30,49 i 82,01 mm. Dužina peteljke ploda bila je između 18,27 i 52,90 mm, a širina između 1,72 i 5,03 mm. Rezultati istraživanja BiH prinova kruške su manje ili više u istom rasponu kao i rezultati prethodnih studija. Đurić et al. (2014) analizirali su pomološke i ekofiziološke karakteristike germplazme kruške prikupljene u BiH. Tako je tvrdoća mesa ploda bila između 3,68 i 10,35 kg/cm² a ukupan sadržaj rastvorljive suve materije u čelijskom soku mesa bio između 11,12 i 18,72 °Brix (Đurić et al., 2014). U ovom istraživanju tvrdoća mesa ploda je varirala od 2,68 do 10,70 kg/cm², a vrijednosti ukupnog sadržaja rastvorljive suve materije varirale su od 11,41 do 18,52 °Brix. Stoga su ovi rezultati u skladu sa rezultatima prethodnih studija.



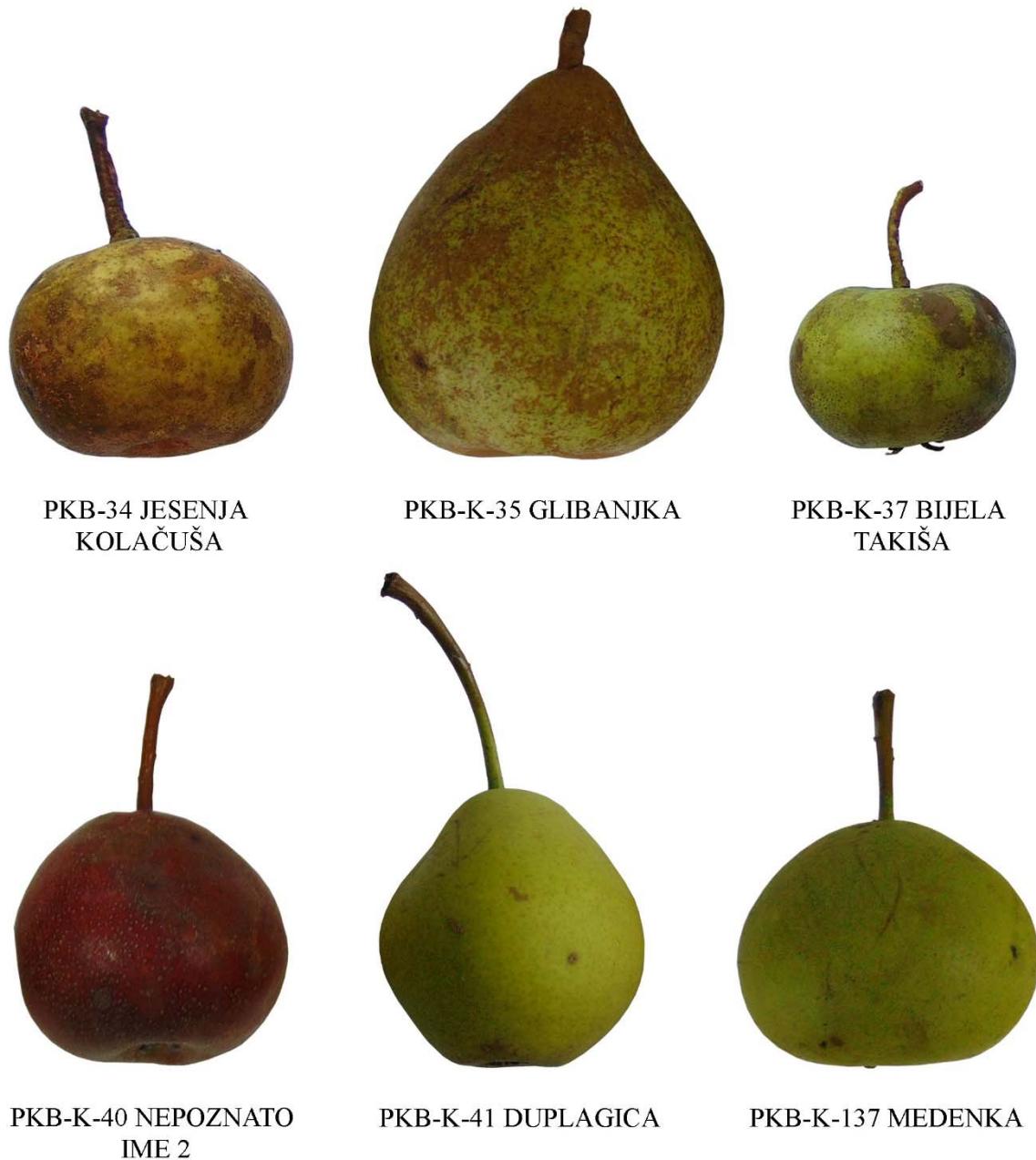
Slika 9. Plodovi BiH prinova kruške (PKB-K-3 Litrenjača, PKB-K-6 Ilinjača, PKB-K-8 Batvača, PKB-K-10 Arapka crna, PKB-K-14 Ječmenka i PKB-K-Hošija)



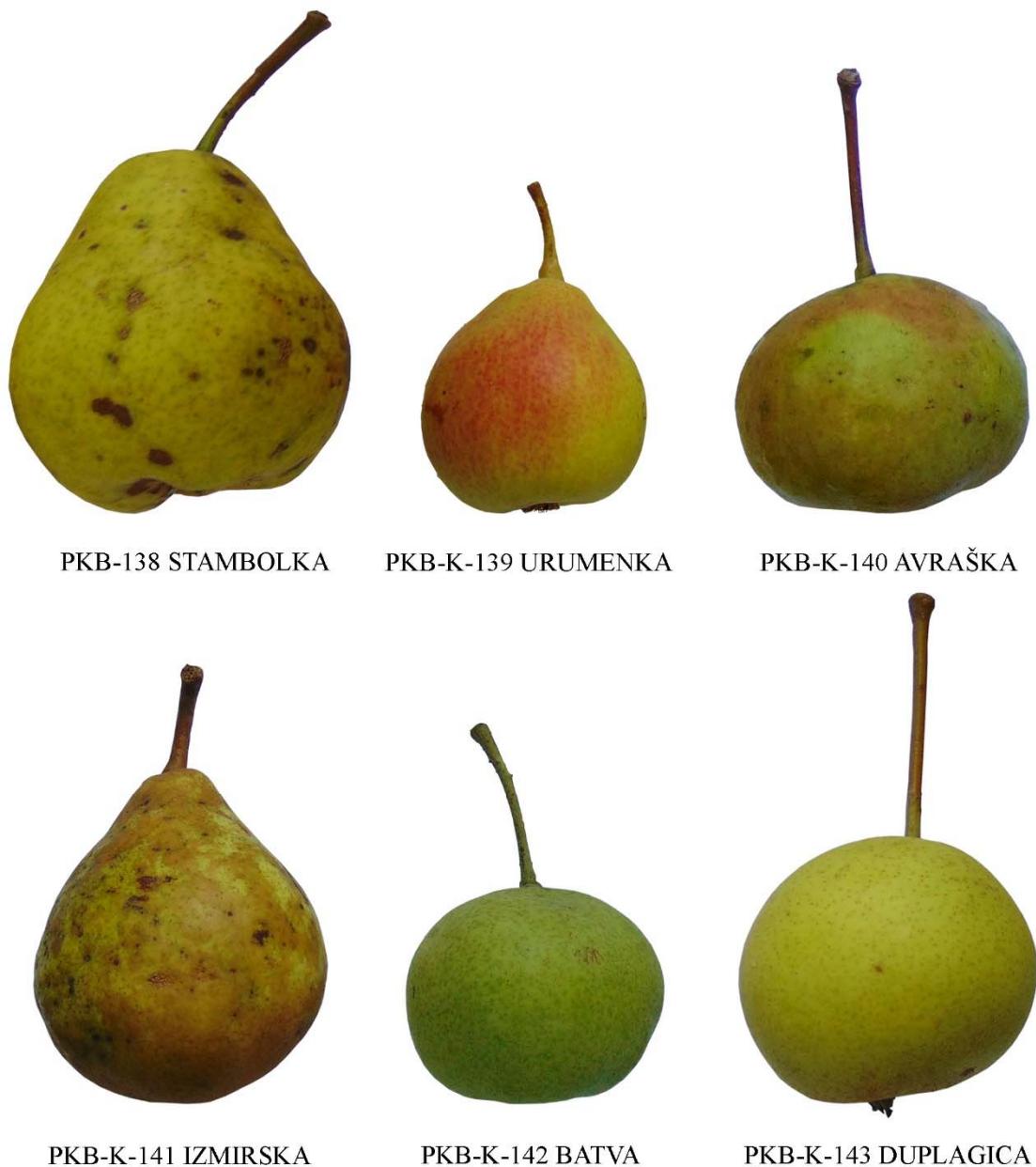
Slika 10. Plodovi BiH prinova kruške (PKB-K-17 Čađanka, PKB-K-18 Jagodnjača, PKB-K-19 Kantaruša, PKB-K-20 Citronka, PKB-K-21 Kongresovka i PKB-K-22 Čavka)



Slika 11. Plodovi BiH prinova kruške (PKB-K-23 Medenica, PKB-K-24 Ljetnja kolačuša, PKB-K-25 Nepoznato ime 2, PKB-K-29 Sarajka, PKB-K-31 Sarevka i PKB-K-32 Okrugla bostanka)



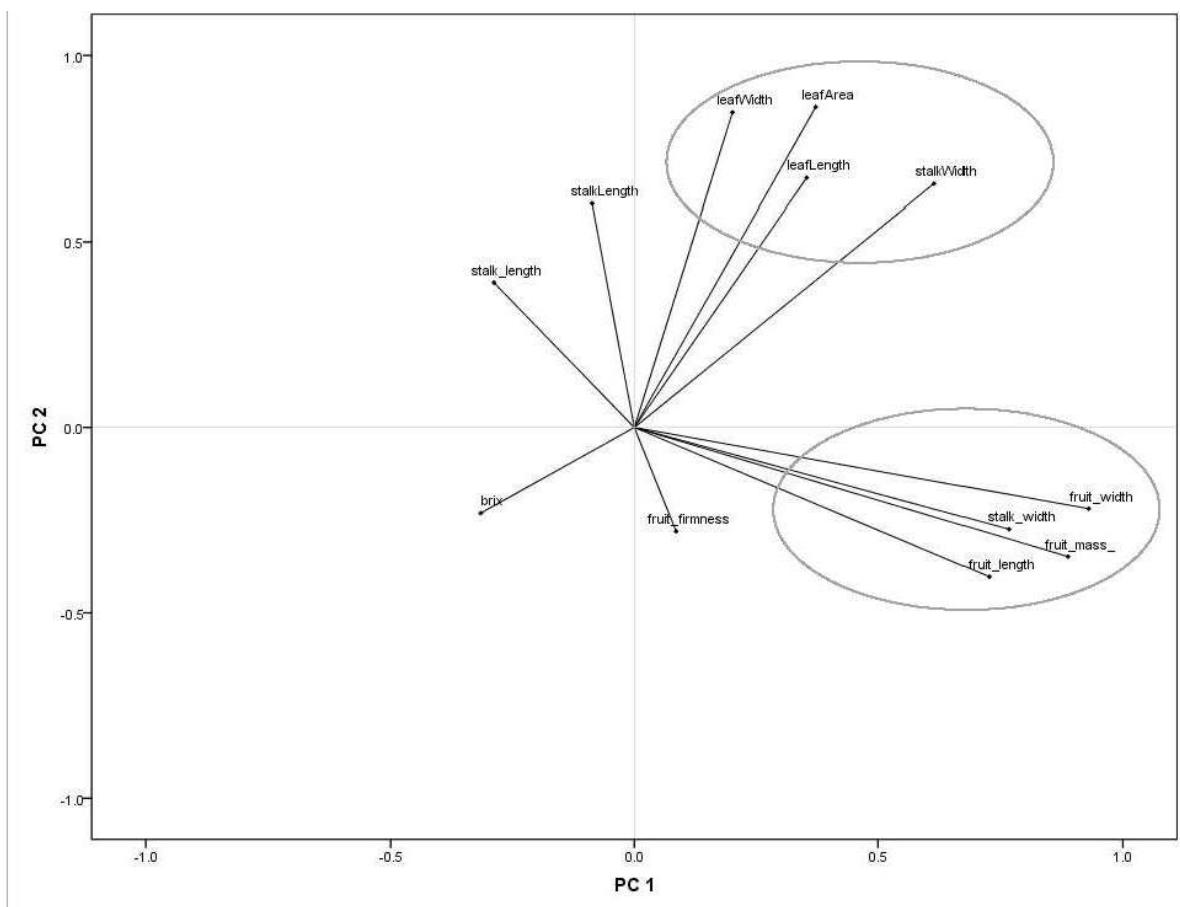
Slika 12. Plodovi BiH prinova kruške (PKB-K-34 Jesenja kolačuša, PKB-K-35 Glibanjka, PKB-K-37 Bijela takiša, PKB-K-40 Nepoznato ime 2, PKB-K-41 Duplagica i PKB-K-137 Medenka)



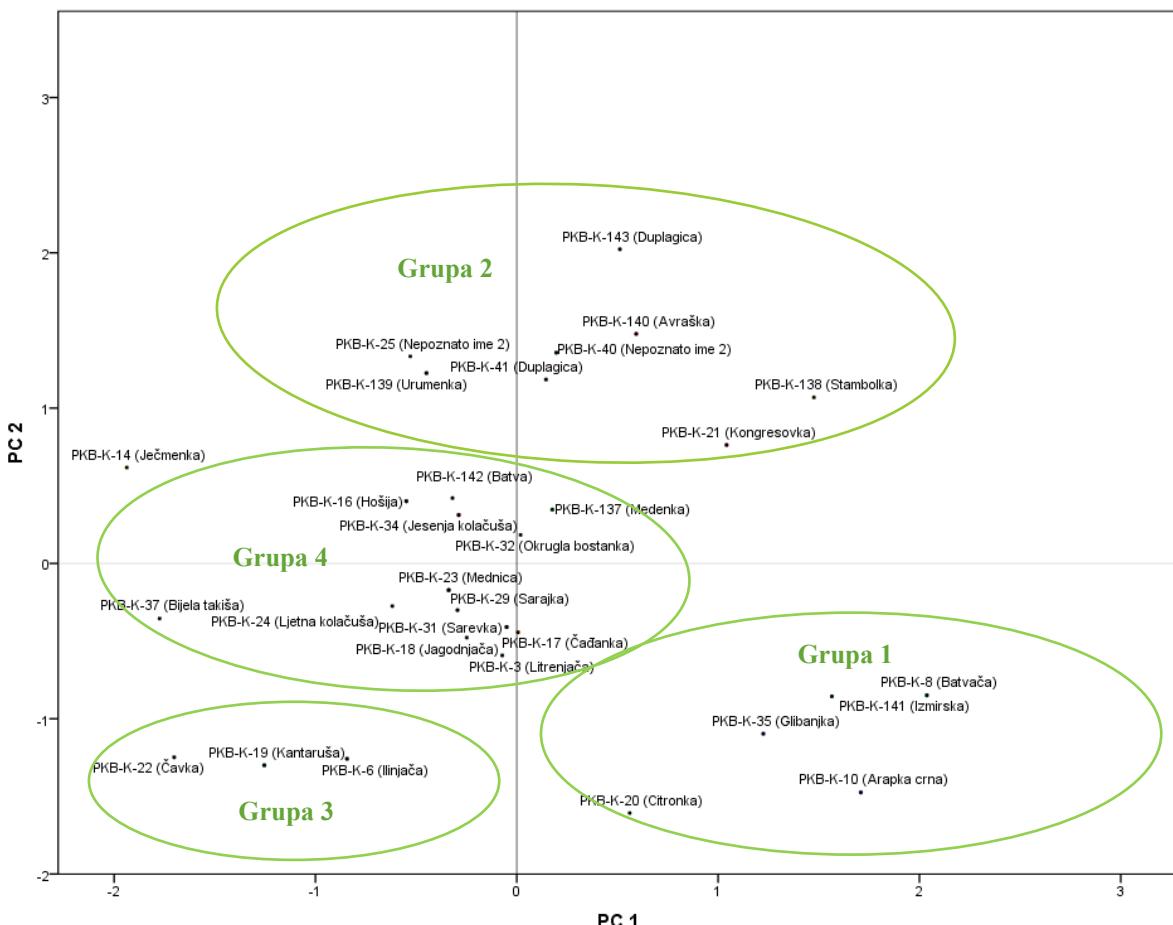
Slika 13. Plodovi BiH prinova kruške (PKB-K-138 Stambolka, PKB-K-139 Urumenka, PKB-K-140 Avraška, PKB-K-141 Izmirská, PKB-K-Batva and PKB-K-143 Duplagica)

6.4 Analiza morfo-pomoloških karakteristika BiH prinova kruške

Svi dobijeni podaci za sljedeće karakteristike: težina ploda, relativna veličina ploda, (dužina i širina ploda), dužina peteljke, širina peteljke, °Brix i tvrdoća ploda, dužina i širina lisne plojke, dužina i širina lisne drške, kao i površina lista, korišćeni su za analizu glavnih komponenti. Kada se posmatraju morfo-pomološke karakteristike, grupisanje prinova prema karakteristikama lista jasno je vidljivo u gornjem desnom dijelu grafikona, dok su u donjem desnom dijelu grafikona uglavnom grupisane prinove prema karakteristikama ploda (Slika 14). Ovakvi rezultati ilustruju veću korelaciju između izmjerениh karakteristika ploda sa jedne strane i karakteristika lista sa druge strane, bez visoke korelacije između ove dvije grupe karakteristika.



Slika 14. Analiza glavnih komponenti (PcoA) morfo-pomoloških karakteristika plodova i listova BiH prinova kruške (vektorski grafikon)



Slika 15. Analiza glavnih komponenti (PcoA) BiH prinova kruške prema morfo-pomološkim karakteristikama plodova i listova (grafikon genotipova)

Nakon grupisanja ispitivanih prinova kruške, izvršena je analiza u skladu sa njihovim morfo-pomološkim karakteristikama (Slika 15). Utvrđene su 4 karakteristične grupe koje predstavljaju diverzitet njihovih morfo-pomoloških karakteristika:

1. grupa sa izraženijim karakteristikama ploda;
2. grupa sa izraženijim karakteristikama lista;
3. grupa sa manje izraženim karakteristikama i lista i ploda;
4. grupa genotipova koje su relativno slične i ne ističu se naročito u pogledu izmjerjenih karakteristika.

Prethodna istraživanja morfo-pomoloških karakteristika prinova kruške iz BiH ali i drugih zemalja pokazala su bogatu raznovrsnost (Đurić et al., 2014; Đurić et al., 2015b; Ahmed et al., 2017). Ona se ogledala, prije svega, u razlikama između svih rezultata mjerena

morfo-pomoloških karakteristika prinova. Morfo-pomološke karakteristike prinova kruške iz ovog istraživanja su veoma važne za banku biljnih gena, za proizvođače, kao i za potrošače. Zrelost plodova, sadržaj šećera, odnos šećera i kiselina, osnovna boja i tvrdoća ploda, ovo su osobine koje su odlučujuće pri izboru starih sorti za dalju upotrebu. Ova upotreba se prije svega odnosi na male proizvodnje (sušeni plodovi kruške za kompote i čajeve, proizvodnju rakije, džemova, i sl.) i na lokalna tržišta. Zbog toga je utvrđivanje morfo-pomoloških karakteristika ovih sorti veoma važno u smislu njihovog održivog korišćenja i vraćanja u proizvodnju. Drugi, ne manje važan, razlog evaluacije ovih sorti je njihova prilagodljivost na nove uslove proizvodnje koji proističu iz evidentnih klimatskih promjena i pojave štetnih organizama. Evaluacija ovih sorti u smislu njihove otpornosti na biotičke i abiotičke faktore je takođe neophodna zbog uvođenja pogodnih sorti u oplemenjivačke programe. Međutim, ukoliko ove sorte nemaju poseban značaj za proizvođače zbog svojih morfo-pomoloških karakteristika, njihovo održavanje je veoma teško. Jedini način održavanja ovakvih sorti su *ex-situ* kolekcije, za koje je poznato da imaju visoke troškove i ograničen prostor za održavanje.

U posljednjih nekoliko godina primjećena je povećana sadnja germplazme kruške. Kako je lokalno stanovništvo veoma zainteresovano za morfo-pomološke karakteristike, ovi rezultati će doprinijeti poboljšanju proizvodnje i širenju germplazme kruške širom BiH.

6.5 Poređenje morfo-pomoloških i molekularnih karakteristika duplikata i sinonima

Rezultati dobijeni analizom BiH prinova kruške pomoću SSR markera pokazali su postojanje tri grupe duplikata (3x2 prinove) i tri grupe sinonima (2x2 prinove; 1x3 prinove). Duplikatne prinove Duplagica (PKB- K-41/PKB-K-143) su plodonosile. Sinonimi koji su plodonosili uključuju PKB-K-18 (Jagodnjača) - PKB-K-19 (Kantaruša) i PKB-K-29 (Sarajka) - PKB-K-31 (Sarevka). Poređenjem morfo-pomoloških karakteristika (Tabela 16) duplikata i sinonima BiH prinova kruške utvrđeno je da prinove PKB-K-41 (Duplagica) i PKB-K-143 (Duplagica) imaju iste karakteristike ploda, osim male razlike u tvrdoći ploda. Iz navedenog proizilazi da su ove prinove i morfo-pomološki i genetički identične i može se zaključiti da one predstavljaju prave duplikatne prinove u *ex situ* kolekciji kruške. Prinove iz grupe sinonima nisu imali sličnosti u pogledu karakteristika ploda i bez obzira na genetičku sličnost, ne mogu se okarakterisati kao duplikati u kolekciji. Ukoliko se uporedi grupisanje prinova prema morfo-pomološkim i molekularnim karakteristikama, može se zaključiti da između njih ne postoje preklapanja, osim u slučaju jedne grupe prinove duplikata (Duplagica PKB- K-41/PKB-K-143). Ovi rezultati potvrđuju važnost uključivanja i morfo-pomoloških pored molekularnih markera u identifikaciji duplikata u kolekciji.

Tabela 16. Morfo-pomološke karakteristike BiH prinova kruške iz grupe duplikata i sinonima

Morfo-pomološke karakteristike	PKB-K-41 Duplagica	PKB-K-143 Duplagica	PKB-K-18 Jagodnjača	PKB-K-19 Kantaruša	PKB-K-29 Sarajka	PKB-K-31 Sarevka
Zrelost ploda	veoma rana	veoma rana	veoma rana	veoma rana	veoma rana	rana
Masa ploda	treća grupa	treća grupa	treća grupa	četvrta grupa	treća grupa	druga grupa
Dužina ploda	druga grupa	druga grupa	treća grupa	treća grupa	treća grupa	druga grupa
Širina ploda	druga grupa	druga grupa	prva grupa	prva grupa	druga grupa	druga grupa
Osnovna boja	zeleno žuta	zelenožuta	zelenožuta	zelena	zelenožuta	zelenožuta
Dopunska boja	-	-	crvena	crvena	ružičastocrvena	-
Rđa	veoma slaba	veoma slaba	slaba	slaba	veoma slaba	slaba do srednja
Peteljka ploda	veoma duga	veoma duga	kratka	duga	duga	srednje duga
Sadržaj ukupnih rastvorljivih suvih materija	prosječan	prosječan	prosječan	prosječan	uvećan	visok
Tvrdoća ploda	srednje meka	meka	meka	tvrđ	srednje mekan	srednje tvrd
List	sitan do srednje krupan	sitan do srednje krupan	sitan do srednje krupan	sitan	sitan do srednje krupan	srednje krupan
Habitus stabla	izrazito uspravno "fastigiata"	izrazito uspravno "fastigiata"	izrazito uspravno "fastigiata"	izrazito uspravno "fastigiata"	padajuća krošnja	široka krošnja

Ovo istraživanje predstavlja prvu kompletну morfo-pomološku i molekularnu karakterizaciju germplazme kruške u BiH. Identifikacija jedinstvenih prinova i njihovih morfo-pomoloških karakteristika predstavlja prvi korak u daljoj evaluaciji za potrebe njihove održive upotrebe i uvođenja u oplemenjivačke programe. U skladu sa rezultatima već izvršenih evaluacija (Đurić et al., 2015a; Andić, 2019) neke od BiH prinova kruške su bile otporne na eriofidne grinje i 4 ekonomski najznačajnija virusa jabučastih voćaka: virus hlorotične lisne pjegavosti (engl. *Apple Chlorotic Leaf Spot Virus* - ACLSV), virus brazdavosti stabla jabuke (engl. *Apple Stem Grooving Virus* - ASGV), virus jamičavosti stabla jabuke (engl. *Apple Stem Pitting Virus* - ASPV) i virus mozaika jabuke (engl. *Apple Mosaic Virus* - ApMV), kao i na fitoplazmu *Candidatus Phytoplasma pyri*. Prethodne biohemijiske analize nekih od BiH prinova kruške su pokazale da imaju visok sadržaj fenolnih jedinjenja (Đurić et al., 2015b). Sva ova istraživanja predstavljaju početnu osnovu za dalji proces evaluacije u cilju valorizacije germplazme kruške u BiH i za pokretanje oplemenjivačkih programa.

7. ZAKLJUČCI

Sprovedena karakterizacija BiH prinova kruške na fenološkom, morfo-pomološkom i molekularnom nivou predstavlja prvi korak ka evaluaciji BiH germplazme kruške. U skladu sa dobijenim rezultatima, doneseni su sljedeći zaključci:

- BIH je vrlo bogata germplazmom kruške;
- Visoka molekularna raznovrsnost je potvrđena u *ex situ* kolekciji BiH kruške;
- Poređenjem molekularnih podataka sa podacima iz Brogdejl kolekcije i podataka iz studije Gaši et al. (2013a) potvrđen je visok nivo polimorfizma na molekularnom nivou BiH kolekcije kruške. Nisu utvrđene duplikatne prinove između ovog i istraživanja Gaši et al. (2013a). Identifikovane su samo dvije duplikatne prinove između BiH i Brogdejl kolekcije (PKB-K-16 (Hošija)/Coscia_Precoce i PKB-K-41 Izmirsk/Williams/Nye_Russet_Bartlett/Parburton);
- Prinove koje su upoređene na morfološkom i molekularnom nivou, i na molekularnom nivou sa drugom bazom podataka i koje su pokazale jedinstvene profile biće predložene za upis u Sortnu listu Republike Srpske i BiH;
- Na osnovu morfo-pomoloških i molekularnih karakteristika duplikata i sinonima povrđeno je prisustvo samo jedne duplikatne prinove, a to je Duplagica (PKB-K-41 i PKB-K-143).

Ovim istraživanjem dobijeni su prvi kompletni rezultati za morfo-pomološku i molekularnu karakterizaciju BiH germplazme kruške. Prema tome, veoma je važno nastaviti sa procesom evaluacije prinova kruške kako bi se utvrdile pozitivne agronomске osobine za buduće oplemenjivačke programe.

8. LITERATURA

1. Ahmed, M., Anjum, M.A., Hussain, S., Ejaz, S., Ahmad, A., Ercisli, S. (2017). Biodiversity in Indigenous Germplasm of *Pyrus* from Pakistan Based on Phenotypical and Morphological Traits. *Erwerbs-Obstbau*, 59: 19-27.
2. Andić, S. (2019). Osjetljivost autohtonih gentipova kruške na kruškinu eriofidnu grinju (*Eriophyes Pyri*). Završni rad. Poljoprivredni fakultet Univerzitet u Banjoj Luci.
3. Alizadeh, K., Fatholahi, S., Teixeira da Silva, J. A. (2015). Variation in the fruit characteristics of local pear (*Pyrus spp.*) in Northwest of Iran. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 62 (5): 635-641.
4. Al-Samarai, F. R., Al-Kazaz, A. A. (2015). Molecular markers: An Introduction and Applications. *European Journal of Molecular Biotechnology*, 9(3): 118-130.
5. Arif, I. A., Bakir, M. A., Khan, H .A., Al Farhan, A. H., Al Homaidan, A. A., Bahkali, A. H., Sadoon, M. A., Shobrak, M. (2010). A brief review of molecular techniques to assess plant diversity. *International Journal of Molecular Sciences*, 11: 2007-2096.
6. Bayazit, S., Caliskan, O., Sümbül, A. (2016). Morpho-pomological diversity of Turkish pear (*Pyrus communis* L.) accessions in eastern mediterranean region of Turkey. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus*, 15(5): 157-171.
7. Beširević, V. (2009). Autohtone jabuke i kruške sa prostora Bosne i Hercegovine. Hafo-Graf d.o.o Tuzla.
8. Bhargava, A., Fuentes, F.F. (2010). Mutational Dynamics of Microsatellites. *Molecular Biotechnology*. 44 (3): 250-266.
9. Brini, W., Mars, M., Hormaza, J. I. (2008). Genetic diversity in local Tunisian pears (*Pyrus communis* L.) studied with SSR markers. *Scientia horticulturae*, 115: 337-341.
10. Bühlmann, A., Gassmann, J., Ingenfeld, A., Hunziker, K., Kellerhals, M., Frey, J. E. (2015). Molecular Characterisation of the Swiss Fruit Genetic Resources. *Erwerbs-Obstbau*, 57(1): 29-34.
11. Carvalho, V. P., Ruas, C. F., Ferreira, J. M., Moreira, R. M. P., Ruas, M. P. (2004). Genetic diversity among maize (*Zea mays* L.) landraces assessed by RAPD markers. *Genetics and Molecular Biology*, 27 (2): 228-236.

12. Change, D., Vanderzande, S., Kirk, C., Profitt, N., Weskett, R., Gardiner, S. E., Peace, C. P., Volz, R. K., Bassil, N. V. (2019). Validation of SNP markers for fruit quality and disease resistance loci in apple (*Malus × domestica* Borkh.) using the OpenArray® platform. Horticulture Research, 6, 30.
13. Condit, R., Hubbell, S.P. (1991). Abundance and DNA sequence of two-base repeat regions in tropical tree genomes. Genome, 34: 66-71.
14. Dar, J. A., Wani, A. A., Dhar, M. K. (2019). Assessment of the Genetic Diversity of Apple (*Malus × domestica* Borkh.) Cultivars Grown in the Kashmir Valley using Microsatellite Markers. Journal of King Saud University-Science, 31(2): 194-201.
15. Demirsoy, L., Demir, T., Demirsoy, H., Kaçar, Y. A., Okumus, A. (2008). Identification of some sweet cherry cultivars grown in Amasya by RAPD markers. Acta Horticulturae, 795: 147-153.
16. Doyle, J.J., Doyle, J.L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus, 12(1): 13-15.
17. Đurić, G., Tomić, L., Radun, M., Pećanac, D. (2009a). Očuvanje i održivo korišćenje biljnih genetičkih resursa u Republici Srpskoj. Naučno stručni skup sa međunarodnim učešćem «Zaštita i zdravlje na radu i zaštita životne sredine», Banjaluka. Zbornik radova: 81-94.
18. Đurić, G., Tomić, L., Mićić, N., Cvetković, M., Radoš, Lj., Pašalić, B. (2009b). Fruit genetic resources in Republica Srpska. Acta Agriculturae Serbica, 14(28): 31-40.
19. Đurić, G., Mićić, N., Salkić, B. (2014). Evaluation of Pear (*Pyrus communis* L.) Germplasm Collected in Bosnia and Herzegovina Using Some Pomological and Ecophysiological Characteristics. Acta Horticulturae, 1032: 105-115.
20. Đurić, G., Lolić, B., Kajkut Zeljković, M., Delić, D., Koprivica, M., Radulović, M., Nikolić, P., Mićić, N., Erić, Ž. (2015a). Sanitary Status of Pome and Stone Fruit Collection in Gene Bank in Republic of Srpska. Agro-knowledge Journal, 16 (1): 121-133.
21. Đurić, G., Žabić, M., Rodić, M., Stanivuković, S., Bosančić, B., Pašalić, B. (2015b). Biochemical and pomological assessment of European pear accessions from Bosnia and Herzegovina. Horticultural Science (Prague), 42(4): 176-184.
22. Eid, M. (2019). RAPD fingerprinting and genetic relationships of some wheat genotypes. International Journal of Genetics and Genomics, 7(1): 1-11.

23. Erfani-Moghadam., Zarei, A. (2018). Assessment of genetic structure among different pear species (*Pyrus* spp.) using apple-derived SSR and evidence of duplications in the pear genome. *Biotechnology & Biotechnological equipment*, 32(3): 591-601.
24. Evans, K.M., Fernández- Fernández, F., Govan, F. (2009). Harmonising Fingerprinting Protocols to Allow Comparison between Germplasm Collections – *Pyrus*. *Acta Horticulturae*, 814: 103-106.
25. Ferradini, N., Lancioni, H., Torricelli, R., Russi, L., Dalla Ragione, I., Cardinali, I., Macroni, G., Gramaccia, M., Concezzi, L., Achilli, A., Veronesi, F., Albertini, A. (2017). Characterization and phylogenetic analysis of ancient Italian landraces of pear. *Frontiers in Plant Science*, 8: 751.
26. Fernández-Fernández, F., Harvey, N.G., James, C.M. (2006). Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers from European pear (*Pyrus communis* L.). *Molecular Ecology Notes*, 6: 1039-1041.
27. Ferreira dos Santos, A. R., Ramos-Cabrer, A. M., Diaz- Hernández, B. Pereira-Lorenzo, S. (2011). Genetic variability and diversification process in local pear cultivars from northwestern Spain using microsatellites. *Tree Genetics & Genomes*, 7: 1041-1056.
28. Food and Agricultural Organisation of United Nations (FAO). (1996). International Treaty on Plant Genetic Resources for Food and Agriculture. Rome, Italy.
29. Food and Agricultural Organisation of United Nations (FAO). (1996). Global Plan of Action for the Conservation and Sustainable Utilization of Plant Genetic Resources for Food and Agriculture and Leipzig Declaration. Rome, Italy.
30. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2019). The state of the world's biodiversity for food and agriculture. Commission on genetic resources for food and agriculture, 329. Rome, Italy.
31. Garkava-Gustavsson, L., Kolodinska Brantestam, A., Sehic, J., Nybom, H. (2008). Molecular characterisation of indigenous Swedish apple cultivars based on SSR and S-allele analysis. *Hereditas*, 145(3): 99-112.
32. Garkava-Gustavsson, L., Nybom, H. (2007). Genetic diversity in a collection of apple (*Malus x domestica* Borkh.) cultivars as revealed by RAPD markers. *International Journal of Horticultural Science*, 13(3): 25-35.
33. Garkava-Gustavsson, L., Mujaju, C., Sehic, J., Zborowska, A., Backes, G. M., Hietaranta, T., Antonius, K. (2013). Genetic diversity in Swedish and Finnish heirloom apple cultivars revealed with SSR markers. *Scientia Horticulturae*, 162: 43-48.

34. Gaši, F., Kurtović, M., Kalamujić, B., Pojskić, N., Grahić, J., Kaiser, C., Meland, M. (2013a). Assessment of European pear (*Pyrus communis* L.) genetic resources in Bosnia and Herzegovina using microsatellite markers. *Scientia Horticulturae*, 157: 74-83.
35. Gaši, F., Kurtović, M., Nikolić, D., Pejić, I. (2013b). Genetika i oplemenjivanje jabuke. Printcom, Tuzla, 164-171.
36. Gaši, F., Šimon, S., Pojskić, N., Kurtović, M., Pejić, I., Meland, M., Kaiser, C. (2013c). Evaluation of Apple (*Malus ×domestica*) Genetic Resources in Bosnia and Herzegovina Using Microsatellite Markers. *HortScience*, 48(1): 13-21.
37. Gomes, S., Castro, C., Barrias, S., Pereira, L., Jorge, P., Fernandes, J. R., Martins-Lopes, P. (2018). Alternative SNP detection platforms, HRM and biosensors, for varietal identification in *Vitis vinifera* L. using F3H and LDOXgenes. *Scientific Reports*, 8, 5850.
38. Grover, A., Sharma, P. C. (2016). Development and use of molecular markers: past and present. *Critical Reviews in Biotechnology*, 36(2): 290-302.
39. Giovannini, D., Punelli, F., Leone, A., Liverani, A., Ranieri, M., Faedi, W. (2011). Genetic diversity in ancient fruit tree germplasm from Southern Italy. *Acta Horticulturae*, 918: 741-748.
40. Gower, J.C. (1971). A general coefficient of similarity and some of its properties. *Biometrics*, 27(4): 857-871.
41. Harlan, J. R., Martini, M. L. (1936). Problems and results in barley breeding. In *Yearbook of Agriculture*. Washington D.C., U.S. Department of Agriculture.
42. Huang, S., Sun, L., Hu, X., Wang, Y., Zhang, Y., Nevo, E., Peng, J., Sun, D. (2018). Associations of canopy leaf traits with SNP markers in durum wheat (*Triticum turgidum* L. *durum* (Desf.)). *Plos One*, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206226>.
43. Huq, M. A., Akter, S., Nou, I. S., Kim, H. T., Jung, Y. J., Kang, K. K. (2016). Identification of functional SNPs in genes and their effects on plant phenotypes. *Journal of Plant Biotechnology*, 43: 1-11.
44. Ilginm M., Kafkas, S., Ercisli, S. (2009). Molecular characterization of plum cultivars by AFLP markers. *Biotechnology&Biotechnological Equipment*, 23(2): 1189-1193.
45. Kajkut, M., Đurić, G., Mićić, N. (2015). Preliminary identification of pear accessions of "Lubeničarka" group using RAPD markers. *European Journal of Horticultural Science* 80(3): 134-138.
46. Kalkisim, O., Okcu, Z., Karabulut, B., Ozdes, D., Duran, C. (2018). Evaluation of Pomological and Morphological Characteristics and Chemical Compositions of Local

- Pear Varieties (*Pyrus communis* L.) Grown in Gumushane, Turkey. Erwerbs-Obstbau, 60 (2): 173-181.
47. Khlestkina, E. K., Salina, E.A. (2006). SNP Markers: Methods of Analysis, Ways of Development and Comparison on an Example of Common Wheat. Russian Journal of Genetics, 42(6): 585-594.
48. Kolář, F., Čertner, M., Suda, J., Schönswitter, P., & Husband, B. C. (2017). Mixed-Ploidy Species: Progress and Opportunities in Polyploid Research. Trends in Plant Science, 22(12): 1041–1055.
49. Li, X., Singh, J., Qin, M., Li, S., Zhang, X., Zhang, M., Khan, A., Zhang, S., Wu, J. (2019). Development of an integrated 200K SNP genotyping array and application for genetic mapping, genome assembly improvement and genome wide association studies in pear (*Pyrus*). Plant Biotechnology Journal, 1-13 <https://doi.org/10.1111/pbi.13085>.
50. Liu, Q., Song, Y., Liu, L., Zhang, M., Sun, J., Zhang, S., Wu, J. (2015). Genetic diversity and population structure of pear (*Pyrus* spp.) collections revealed by a set core genome-wide SSR markers. Tree Genetic&Genomes, 11:128.
51. Liu, W., Li, S., Zhang, A., Liu, D. (2007). Genetic diversity revealed by RAPD markers in plum collection of China. Acta Horticulturae, 734: 287-294.
52. Loskutov, I. G. (1999). Vavilov and his institute. A history of the world collection of plant genetic resources in Russia. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
53. Makovics-Zsöhár, N., Tóth, M., Surányi, D., Kovács, S., Hegedűs, A., Halász, J. (2017). Simple Sequence Repeat Markers Reveal Hungarian Plum (*Prunus domestica* L.) Germplasm as a Valuable Gene Resource. American Society for Horticultural Science, 52(12): 1655-1660.
54. Mammadov, J., Aggarwal, R., Buyyrapu, R., Kumpatla, S. (2012). SNP Markers and Their Impact on Plant Breeding. International Journal of Plant Genomics, 2012: 1-11.
55. Meier, U. (2001). Growth stages of mono-and dicotyledonous plants. BBCH Monograph 12: 141–147.
56. Meirmans, P., Liu, S., Tienderen, P. (2018). The Analysis of Polyploid Genetic Data – Invited Review. Journal of Heredity, 109(3): 283–296, doi:10.1093/jhered/esy006.
57. Miranda, C., Urrestarazu, J., Santesteban, L.G., Royo, J.B., Urbina, V., (2010). Genetic diversity and structure in a collection of ancient Spanish pear cultivars assessed by microsatellite markers. Journal of American Society for Horticultural Science, 135: 428–437.

58. Nadeem, M.A., Nawaz, M. A., Shahid, M. Q., Doğan, A., Comertpay, G., Yıldız, M., Hatipoğlu, R., Ahmad, F., Alsaleh, A., Labhane, N., Özkan, H., Chung, G., Baloch, F. S. (2017). DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 32(2): 261-285.
59. Öztürk, A., Demirsoy, L. (2016). Evaluation of relationships between pear genotypes from North Anatolia, Turkey using SSR markers. *Acta Hortic*, 1139: 49-56.
60. Parida, S.K., Kalia, S.K., Sunita, K., Dalal, V., Hemaprabha, G., Selvi, A., Pandit, A., Singh, A., Gaikwad, K., Sharma, T.R., Srivastava, P.S., Singh, N.K., Mohapatra, T. (2009). Informative genomic microsatellite markers for efficient genotyping applications in sugarcane. *Theoretical and Applied Genetics*, 118:327-338.
61. Paunović, S. (1991). Banka gena voćaka Jugoslavije, Izvještaj. Agronomski fakultet Univerziteta u Kragujevcu.
62. Peace C.P., Bianco L., Troggio M., Van de Weg, E., Howard N.P., Cornille A., Durel C.-E., Myles S., Migicovsky Z., Schaffer R., Costes E., Fazio G., Yamane H., van Nocker, S., Gottschalk, C., Costa, F., Chagné, D., Zhang, X., Patocchi, A., Gardiner, S.E., Hardner, C., Kumar, S., Laurens, F., Bucher, E., Main, D., Jung, S., Vanderzande S. (2019). Apple whole genome sequences: recent advances and new prospects. *Horticulture Research*, 6:59.
63. Peakall, R., Smouse, P.E. (2006). GENEALEX 6 genetic analysis in Excel Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6(1): 288-295.
64. Pereira-Lorenzo, S., Ferreira dos Santos, A.R., Ramos-Cabrer, A. M., Saub, F., Díaz-Hernández, M.B. (2012). Morphological variation in local pears from north-western Spain. *Scientia Horticulturae*, 138: 176-182.
65. Petrovičová, L., Gálová, Z., Balážová, Ž., Vivodík, M., Wójcik-Jagla, M., Rapacz, M. (2015). Assessment of RAPD polymorphism in rye (*Secale cereale* L.) genotypes. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Science*, 4: 94-97.
66. Phougat, D., Panwar, I. S., Punia, M. S., Sethi, S. K. (2017). Microsatellite markers based characterization in advance breeding lines and cultivars of bread wheat. *Journal of Environmental Biology*, 39: 339-346.
67. Program očuvanja biljnih genetičkih resursa Republike Srpske (2009). Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede Republike Srpske. GrafoMark, Laktaši.
68. Puskás, M., Höfer, M., Sestras, R. E., Peil, A., Sestras, A. F., Hanke, M. V., Flachowsky, H. (2015). Molecular and flow cytometric evaluation of pear (*Pyrus* L.) genetic

- resources of the German and Romanian national fruit collections. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 63(6). DOI 10.1007/s10722-015-0298-3.
69. Rana, J. C., Chahota, R. K., Sharma, V., Rana, M., Verma, N., Verma, B., Sharma, T. R. (2015). Genetic diversity and structure of *Pyrus* accessions of Indian Himalayan region based on morphological and SSR markers. *Tree Genetics&Genomes*, 11:821.
70. Saveljeva, N. A., Kudryavtsev, A. M. (2015). AFLP analysis of genetic diversity in the genus *Mallus* Mill. (Apple). *Russian Journal of Genetics*, 51(10): 966-973.
71. Sciacca, F. F., Di Silvestro, C., Conte, S., Massimo, E. P. (2010). Genetic diversity of durum wheat as determined by AFLP in fluorescence. *Biologia Plantarum*, 54: 198-200.
72. Sehic, J., Garkava-Gustavsson, L., Fernández-Fernández, F., Nybom, H. (2012). Genetic diversity in a collection of European pear (*Pyrus communis*) cultivars determined with SSR markers chosen by ECPGR. *Scientia Horticulturae*, 145: 39-45.
73. Shannon, C. E. (1948). A mathematical theory of communication. *The Bell System Technical Journal*, 27(3): 379-423.
74. Sharifani, M. M., Kimura, T., Yamamoto, T., Chikako, N. (2017). Genetic Diversity of pear (*Pyrus* spp) Germplasm Assessed by Simple Sequence Repeat (SSR) and Morphological Traits. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 4(2): 145-155.
75. Selamvska, A., Miskokska-Milevska, E., Najdenovska, O., Canev, I. (2015). Fruit characteristics of some traditional pear varieties in the Prespa region. *Acta Agriculturae Serbica*, 20(40): 107-115.
76. Sokal, R. R., Sneath, P. H. A. (1963). *Principles of Numerical Taxonomy*. San Francisco: W. H. Freeman & Co, 46(1): 111-112.
77. Stracieri, J., Magalhães, H. M., Resende, L. V., Carvalho, L. C. C. (2015). Simple sequence repeat (SSR) markers are effective for indentifying pear cultivars and selections. *African Journal of Biotechnology*, 14(2): 68-75.
78. Szalatnay, D. (2006). *Obst-Deskriptoren NAP – Descripteurs de Fruits PAN*. Agroscope Changins-Wädenswil and Fructus, Wädenswil.
79. Šiško, M., Javornik, B. (2007). Effectiveness of AFLP and SSR markers in determination of genetic relationships among pear (*Pyrus* spp.) genotypes. *Agricultura*, 5(1): 21-24.
80. Tautz, D. (1989). Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Res*, 17(16): 6463-71.

81. Terakami, S., Nishitani, C., Yamamoto, T. (2013). Development of SNP markers for marker-assisted selection in pear. *Acta Horticulturae*, 976: 463-469.
82. Thibault, B., Watkins, R., Smith, R.A. (1983). Descriptor list for pear (*Pyrus*) CEC Secretariat, Brussels, IBPGR Secretariat, Rome.
83. Urrestarazu, J., Royo, J.B., Santesteban, L. G., Miranda, C. (2015). Evaluating the Influence of the Microsatellite Marker Set on the Genetic Structure Inferred in *Pyrus communis* L. *PLoS One*, 10(9): e0138417.
84. Vučković, B. (2017). Morfološka i genotipska karakterizacija kruške (*Pyrus communis* L.) lubeničarke u banjalučkom regionu. Magistarski rad, Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Banjoj Luci.
85. Vujanič-Varga, D., Ognjanov, V., Balaž, J., Macet, K., Krstić, M. (1994). Genetic resources in apple, pear and vineyard peach population in former Yugoslavia. *Euphytica*, 77: 155-159.
86. Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Van De Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., Zabeau, M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23: 4407-4414.
87. Zabeau, M., Vos, P. (1993). Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA fingerprinting. European Patent Application Number: 9270269.7, publication number: 0534858A1.
88. Zwet, V. D. T., Stankovic, D., Cociu, V. (1983). Collecting *Pyrus* Germplasm in Eastern Europe and its Significance to the USDA Pear Breeding Program. *Acta Horticulturae*, 140: 43-45.
89. Yamamoto, T., Terakami, S. (2016). Genomics of pear and other Rosaceae fruit trees. *Breeding Science*, 66: 148-159. DOI: 10.1270/JSBBS.66.148
90. You, Q., Yang, X., Peng, Z., Xu, L., Wang, J. (2018). Development and Applications of a High Throughput Genotyping Tool for Polyploid Crops: Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Array. *Frontier in Plant Science*, 9: 104. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2018.00104>
91. Queiroz, A., Assunçāo, A., Ramadas, I., Viegas, W., Veloso, M.M. (2015). Molecular characterization of Portuguese pear landraces (*Pyrus communis* L.) using SSR markers. *Scientia Horticulturae*, 183: 72-76.
92. Wolf, J., Barankova, K., Nečas, T. (2017). AFLP Molecular Identification and Genetic Relationship of Chinese and Japanese Pear Cultivars Grown in Middle European Conditions. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoac*, 45(2): 369-374.

93. Wolko, L., Antkowiak, W., Lenartowicz, E., Bocianowski, J. (2010). Genetic diversity of European pear cultivars (*Pyrus communis* L.) and wild pear (*Pyrus pyraster* (L.) Burgsd.) inferred from microsatellite markers analysis. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 57: 801-806.
94. Weir, B.S., Cockerham, C.C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38(6): 1358-1370.
95. Weising, K., Nybom, H., Wolff, K., Kahl, G. (2005). *DNA Fingerprinting in Plants*. Taylor&Francis Group.
96. Welsh, J., McClelland, M. (1990). Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acid Research*, 18: 7213-7218.
97. Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A., Tingey, S.V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18(22): 6531-6535.
98. <https://www.biodiversityinternational.org/e-library/publications/descriptors/> (učitano 11.01.2019).
99. <https://cran.r-project.org/bin/windows/base.old/3.4.4/> (učitano 04.01.2019.)
100. <https://www.cbd.int/doc/legal/cbd-en.pdf> (učitano 17.02.2019.).
101. <https://softgenetics.com/downloads.php> (učitano 15.02.2019.).
102. <http://www.fao.org/plant-treaty/en/> (učitano 18.03.2019.).
103. <https://imagej.net/ImageJ/> (učitano 14.04.2019.).
104. <http://www.ecpgr.cgiar.org/> (učitano 15.04.2019.)
105. <https://www.cbd.int/abs/about/> (učitano 16.04.2019.).
106. <https://www.eucarpia.org/> (učitano 16.04.2019.).

PRILOG 1: Lista tabela

1. Tabela 1. Lista analiziranih BiH prinova i referentnih sorti kruške.
2. Tabela 2. SSR prajmeri, preporučeni od strane ECPGR-a, korišćeni za amplifikaciju DNK fragmenata sa flourescentnom bojom (NED, VIC, PET i 6 FAM) koji su multiplikovani na ABI genetičkom analizatoru.
3. Tabela 3. Broj različitih alela (Na), broj efektivnih alela (Ne), dobijena heterozigotnost (Ho), dobijena heterozigotnost (He) i Shannon-ov indeks (I) kod diploidnih BiH prinova i referentnih sorti kruške.
4. Tabela 4. F statistika (Weir i Cockerham, 1984) za 47 diploidnih BiH prinova i referentnih sorti kruške (Fit- vrijednost inbriding koeficijenta, Fis-Wright-ov koeficijent inbriding, Fst-fiksacijski indeks).
5. Tabela 5. Lista prinova koje su imale koeficijent genetičke sličnosti 1,0 podijeljenje u dvije grupe: duplikatne prinove i sinonimi.
6. Tabela 6. Grupisanje BiH prinova kruške koje su plodonosile prema habitusu stabla (uspravan, izrazito uspravan „Fastigiate“, široka krošnja i padajuća krošnja).
7. Tabela 7. Srednje vrijednosti i standardna greška ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$) za praćene karakteristike lista: dužina lista, širina lista, dužina peteljke, širina peteljke i površina lista (crveno polje-najveće vrijednosti, žuto polje-najmanje vrijednosti).
8. Tabela 8. Grupisanje BiH prinova kruške prema morfološkim karakteristikama lista (veoma mali, mali, mali do srednji i srednji).
9. Tabela 9. Grupisanje BiH prinova kruške prema preliminarnom vremenu dozrijevanja.
10. Tabela 10. Puno cvjetanje i vrijeme dozrijevanja BiH prinova kruške u trogodišnjem periodu (2016., 2017. i 2018. godini).
11. Tabela 11. Grupisanje BiH prinova kruške na osnovu osnovne i dopunske boje ploda.
12. Tabela 12. Grupisanje BiH prinova kruške prema prisustvu rđe na pokožici ploda.
13. Tabela 13. Grupisanje BiH prinova kruške prema dužini peteljke.
14. Tabela 14. Srednje vrijednosti i standardna greška ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$) za sledeće karakteristike ploda BiH prinova kruške: masa, dužina i širina ploda, širina peteljke, dužina peteljke, °brix i tvrdoća ploda (crveno polje-najveće vrijednosti, žuto polje-najmanje vrijednosti).
15. Tabela 15. Grupisanje BiH prinova kruške prema relativnoj veličini ploda.
16. Tabela 16. Morfo-pomološke karakteristike BiH prinova kruške iz grupe duplikata i sinonima.

PRILOG 2: Lista slika

1. Slika 1. Ex situ poljska kolekcija voćaka Instituta za genetičke resurse u Banja Luci.
2. Slika 2. Fenofaza cvjetanja, prinova Pšeničarka tokom 2017. godine (A- faza balona; B- prvi cvijet otvoren; C-puno cvjetanje; D-precvjetavanje).
3. Slika 3. Alelni obrazci kod BiH prinova (B) i referentnih sorti (REF) kruške (Na-broj različitih alela, Na (Frekv.>=5%)-Broj različitih alela sa frekvencijom > 5%, Ne- efektivni aleli, I-Shannon-ov index, No. Private Alleles- Broj privatnih alela unikatnih u pojedinačnoj populaciji).
4. Slika 4. Grupisanje 67 BiH prinova i 7 referentnih sorti kruške (označene zelenim poljem) dobijenih na osnovu SM koeficijenta.
5. Slika 5. Dvodimenzionalni grafikon analize komponenti 67 BiH prinova i 7 referentnih sorti kruške analiziranih pomoću SSR markera (grupa 1 - veći dio BiH prinova je grupisan zajedno sa referentnim sortama (sve diploidne i dio triploidnih sorti), grupa 2 - isključivo BiH triploidne prinove kruške, grupa 3 - isključivo BiH triploidne prinove kruške).
6. Slika 6. Cvjetanje BiH prinova kruške tokom tri godine (■-početak cvjetanja; ■- puno cvjetanje; ■ - precvjetavanje).
7. Slika 7. Cvjetanje BiH prinova kruške tokom dvije godine (■-početak cvjetanja; ■-puno cvjetanje; ■ - precvjetavanje).
8. Slika 8. Cvjetanje BiH prinova kruške tokom jedne godine (■-početak cvjetanja; ■-puno cvjetanje; ■ - precvjetavanje).
9. Slika 9. Plodovi BiH prinova kruške (PKB-K-3 Litrenjača, PKB-K-6 Ilinjača, PKB-K-8 Batvača, PKB-K-10 Arapka crna, PKB-K-14 Ječmenka i PKB-K-Hošija).
10. Slika 10. Plodovi BiH prinova kruške (PKB-K-17 Čađanka, PKB-K-18 Jagodnjača, PKB-K-19 Kantaruša, PKB-K-20 Citronka, PKB-K-21 Kongresovka i PKB-K-22 Čavka).
11. Slika 11. Plodovi BiH prinova kruške (PKB-K-23 Medenica, PKB-K-24 Ljetnja kolačuša, PKB-K-25 Nepoznato ime 2, PKB-K-29 Sarajka, PKB-K-31 Sarevka i PKB-K-32 Okrugla bostanka).
12. Slika 12. Plodovi BiH prinova kruške (PKB-K-34 Jesenja kolačuša, PKB-K-35 Glibanjka, PKB-K-37 Bijela takiša, PKB-K-40 Nepoznato ime 2, PKB-K-41 Duplagica i PKB-K-137 Medenka).
13. Slika 13. Plodovi BiH prinova kruške (PKB-K-138 Stambolka, PKB-K-139 Urumenka, PKB-K-140 Avraška, PKB-K-141 Izmirska, PKB-K-Batva and PKB-K-143 Duplagica).

14. Slika 14. Analiza glavnih komponenti (PcoA) sa morfo-pomološkim karakteristikama plodova i listova BiH prinova kruške (vektorski grafikon).
15. Slika 15. Analiza glavnih komponenti (PcoA) BiH prinova kruške sa morfo-pomološkim karakteristikama plodova i listova (grafikon genotipova).

BIOGRAFIJA AUTORA

Mirela (Drago i Ljubinka) Kajkut Zeljković rođena je u Banjoj Luci 31. oktobra 1986. godine. Završila je osnovnu i srednju Medicinsku školu u Banjoj Luci.

Diplomirala je na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Banjoj Luci 2010. godine sa prosjekom ocjena 8,54. Magistrirala je na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Banjoj Luci 2013. godine sa prosjčnom ocjenom 9,05 stekavši zvanje magistra voćarstva.

Od januara 2012. godine zaposlena je u Institutu za genetičke resurse Univerziteta u Banjoj Luci kroz program podrške mladim istraživačima Ministarstva nauke i tehnologije Republike Srpske. U tom periodu radila je na dva projekta: „Razvoj protokola za *in vitro* konzervaciju biljnih genetičkih resursa“ i „Uvođenje procedura sanitacije i sertifikacije sadnog materijala autohtonih sorti voćaka“.

Izabrana je za istraživača - višeg saradnika 2014. godine u Institutu za genetičke resurse, a 2015. godine birana je za višeg asistenta za užu naučnu oblast Očuvanje i održivo korišćenje genetičkih resursa.

U januaru 2018. godine izabrana je u zvanje višeg asistenta za užu naučnu oblast Poljoprivredna biotehnologija i biotehnologija hrane.

Tokom 2017. i 2018. godine obavljala je dužnost savjetnika ministra nauke i tehnologije u Vladi Republike Srpske.

Od 2018. godine obavlja funkciju narodnog poslanika u Narodnoj Skupštini Republike Srpske.

Članstvo u naučnim i stručnim organizacijama:

1. Međunarodnog udruženja hortikulturnih nauka (International Society for Horticultural Science);
2. Radne grupe Malus/Pyrus u okviru Evropskog programa saradnje za biljne genetičke resurse (European Cooperative Programme fo Plant Genetic Resources);

3. Naučnog hortikulturnog društva BiH;
4. Naučno-voćarskog društva Republike Srpske;
5. Komore inženjera poljoprivrede Republike Srpske;
6. Udrženja agronoma i turizmologa Republike Srpske;
7. Odbora za poljoprivredu, šumarstvo i vodoprivredu Narodne Skupštine Republike Srpske;
8. Odbora za obrazovanje, nauku, kulturu i informisanje Narodne Skupštine Republike Srpske;

Aktivno govori engleski, a pasivno italijanski jezik.

**УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ
ФАКУЛТЕТ: ПОЉОПРИВРЕДНИ**



**УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ**
Број: 10/3. 1684/19
Датум: 24.05. 19. године

**ИЗВЈЕШТАЈ
о оијени урађене докторске дисертације**

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ

- 1) Одлуком Наставно-научног вијећа Потпредсједништва Универзитета број 10/3.4075-1-7/18 од 09.11.2018. године и Одлуком Сената Универзитета у Бањој Луци број 02/04-3.3227-84/18 од 29.11.2018. године, именована је Комисија за оцјену и одбрану докторске дисертације Миреле Кајкут Зељковић, мр под насловом "Карактеризација гермплазме крушке (*Pyrus communis* L.) у Босни и Херцеговини" у следећем саставу:
- Др Соња Ивановска, редовни професор Универзитета Св. Тирила и Методија у Скопју, Факултета за пољопривредне науке и храну, Скопје, Сјеверна Македонија: ужа научна области Генетика и селекција (Конзервација биодиверзитета биљака, Конзервација и употреба биљних генетичких ресурса, Генетика, Савремене генетске методе) предсједник,
 - Др Гордана Ђурић, редовни професор Универзитета у Бањој Луци, Потпредсједништво Универзитета, Бања Лука, Босна и Херцеговина: уже научне области: Хортикултура и Очување генетичких ресурса, ментор, члан
 - Др Лариса Густавсон, ванредни професор Шведског универзитета пољопривредних наука у Упсали, Факултета за пејзажну архитектуру, хортикултуру и науку о усјевима, Алнарп, Шведска: ужа научна област: Генетика и оплемењивање биљака, члан
 - Др Хенрик Флаховски, ванредни професор Мартин Лутер Универзитета (МЛУ), Хале-Витенберг, Њемачка: ужа научна област: Генетика и оплемењивање биљака, члан
 - Др Борис Пашалић, ванредни професор Универзитета у Бањој Луци, Потпредсједништво Универзитета, Бања Лука, Босна и Херцеговина: ужа научна област Хортикултура, члан

- 1) Навести датум и орган који је именовао комисију;
2) Навести састав комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, научно-наставног звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање и назива универзитета/факултета/института на којем је члан комисије запослен.

II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ

- 1) Мирела (Драго) Кајкут Зељковић
- 2) 31.10.1986. године, Бања Лука, Босна и Херцеговина
- 3) Универзитет у Бањој Луци, Потпредсједништво Универзитета, Бања Лука, Босна и Херцеговина, магистар воћарства
- 4) Потпредсједништво Универзитета, "In vitro конзервација принова (accessions) крушке (*Pyrus communis* L.) у Банци гена Републике Српске", Потпредсједништво Универзитета, Бања Лука, Босна и Херцеговина, 23.12.2013. године.
- 5) Потпредсједништво Универзитета, Бања Лука, Босна и Херцеговина, магистар воћарства
- 6) Потпредсједништво Универзитета, Бања Лука, Босна и Херцеговина, 2014 године.

- 1) Име, име једног родитеља, презиме;
- 2) Датум рођења, општина, држава;
- 3) Назив универзитета и факултета и назив студијског програма академских студија II циклуса, односно послиједипломских магистарских студија и стечено стручно/научно звање;
- 4) Факултет, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране магистарског рада;
- 5) Научна област из које је стечено научно звање магистра наука/академско звање мастера;
- 6) Година уписа на докторске студије и назив студијског програма.

III УВОДНИ ДИО ОЦЈЕНЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

- 1)"Карактеризација гермплазме крушке (*Pyrus communis* L.) у Босни и Херцеговини
 2) Наставно-научно вијеће Пољопривредног факултета, одлука број: 10/3.1435-7-6/18 и Сенат Универзитета у Бањој Луци, одлука број 02/04-3.1444-32/18.
 3) Садржај докторске дисертације са страничењем;
 Увод: 1; Преглед литературе: 2-14; Циљ истраживања: 15; Радна хипотеза: 16; Материјал и методе: 17-22; Резултати дискусија: 23-55; Закључци: 56; Литература: 57-65; Прилог 1: Листа табела: 66; Прилог 2: Листа фотографија: 67-68; Биографија и библиографија кандидата: 69-70.
 4) Докторска дисертација кандидата Миреле Кајкут Зељковић, мр под насловом "Карактеризација гермплазме крушке (*Pyrus communis* L.) у Босни и Херцеговини" написана је на укупно 81 страници А4 формата од чега је 11 уводних страница: прва страница са насловом на енглеском језику, друга страница са насловом на српском језику, страница са информацијама о ментору, дисертацији и сажецима на енглеском и српском језику, захвалница, посвета, списак скраћеница и садржај, затим 70 страница текста дисертације на енглеском језику коју чине: 16 табела, 15 слика, 106 цитираних референци, 3 стране прилога са листом табела и фотографија, странице са биографијом и библиографијом кандидата.
- 1) Наслов докторске дисертације;
 - 2) Вријеме и орган који је прихватио тему докторске дисертације
 - 3) Садржај докторске дисертације са страничењем;
 - 4) Истаћи основне податке о докторској дисертацији: обим, број табела, слика, шема, графика, број цитиране литературе и навести поглавља.

IV УВОД И ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

- 1) Раст становништва, урбанизација и климатске промјене резултују губитком биљних генетичких ресурса (БГР), који се повећао у последњих неколико деценија, што је негативно утицало на глобалну сигурност хране. Очување БГР-а и њихово одрживо коришћење важна су обавеза сваког друштва. Климатске промјене све више утичу на смањење биодиверзитета, што повећава генетичку ерозију. Губитак гена у пољопривреди директно утиче на производњу хране, и као резултат тога, долази до смањења квалитета, приноса и понуде производа на тржишту. БГР представљају генетску основу и извор гена за побољшање усјева. БГР такође представљају једну од најважнијих компоненти природних ресурса и основу развоја пољопривреде у циљу повећања производње хране, као и њеног квалитета и разноврсности. Очување и одрживо коришћење биљних генетичких ресурса има велики значај и игра важну улогу у спашавању од генетичке ерозије, очувању и коришћењу широког спектра диверзитета међу врстама и унутар врста, чиме се обезбеђује храна за будуће генерације. Балканско полуострво и Босна и Херцеговина (БиХ) су веома богати БГР-ом, посебно генетичким ресурсима воћака. Њихов значај за глобални систем безбедности хране је препознат, али још увек има много послла да се уради на очувању и одрживом коришћењу. Активности на инвентаризацији и сакупљању су обављене готово у цијелој БиХ, али карактеризација и кориштење прикупљеног материјала није вршена за све врсте. Генетички ресурси крушке присутни су у БиХ кроз вијекове. Многи од њих су преношени из мјеста у мјесто како би се ова воћна врста ширила због добрих карактеристика плода. Традиционалне сорте крушке

су углавном биле присутне у кућним баштама, али су у последњих неколико деценија замијењене новим комерцијалним сортама. Одређивање морфолошких карактеристика и генетичке разноврсности гермплазме крушке има огроман значај за њихову конзервацију и одрживу употребу. Гермплазма крушке у банкама гена се чува у *ex situ* польским колекцијама воћака. Одређивање фенолошких, помолошких и морфолошких карактеристика су главни задаци у оквиру активности очувања. Ниво генетичке сличности, дупликати у *ex situ* колекцијама и погрешно означавање могу се утврдити помоћу молекуларних маркера. Примјеном ове технике карактеризације, идентификоваће се гермплазма крушке и као резултат овог истраживања утврдиће се нови потенцијални донатори за оплемењивачке програме или нови генотипови за специфичну употребу. Ово истраживање ће допринијети заштити и одрживом коришћењу генетичких ресурса крушке у БиХ. Узимајући у обзир значај БГР и њихову употребу за безбједност хране, овај рад даје резултате морфолошких и молекуларних карактеристика гермплазме крушке у циљу развоја најбоље стратегије за њихово очување и одрживу употребу. Стога је циљ овог истраживања био:

1. Евалуација генетичке везе између принова крушке у *ex situ* колекцији воћака Института за генетичке ресурсе (БиХ колекција) коришћењем SSR (Simple Sequence Repeat) молекуларних маркера;
2. Евалуација фенолошких, морфолошких и помолошких карактеристика принова крушке из БиХ колекције;
3. Поређење добијених SSR профила принова крушке са SSR профилима из других банака гена како би се елиминисали могући дупликати;
4. Издавање принова са јединственим генетичким профилима које ће бити предложене за упису у Сортну листу Републике Српске и БиХ.

Хипотеза ове студије је да молекуларна и морфолошка карактеризација, као и фенолошка опажања и помолошке анализе омогућавају утврђивање идентитета принова крушке у *ex situ* колекцији воћака. Идентификација путем молекуларног профилисања ће омогућити идентификацију евентуалних дупликата у колекцији воћака у Институту за генетичке ресурсе и указати на принове са јединственим молекуларним профилима. Да би се потврдила аутохтона гермплазма крушке у БиХ, извршиће се поређење добијених микросателитних профила анализираних принова крушке с профилима принова крушке из других међународних колекција банака гена.

- 2) У првом дијелу прегледа литературе објашњене су вриједност и значај БГР и историја њиховог сакупљања и очувања (Harlan и Martini, 1936; Loskutov, 1999), затим присуство БГР на Балканском полуострву, инвентаризација и колекционе мисије и активности на оснивање Југословенске банке гена (Zwet et al., 1983, Paunović; Vučić-Varga et al., 1994, Đurić et al., 2009a; Đurić et al., 2009b). Поновне активности на очувања БГР започеле су кроз регионални пројекат “Развојна мрежа југоисточне Европе” који је подржан од стране Шведске агенције за међународну развојну сарадњу у 2004. години. Осим тога, кроз реализацију овог пројекта, инвентаризација територије Републике Српска је почела с циљем да се утврди постојећи генетички фонд. Овај пројекат је био и основа за успостављање Програма очувања биљних генетичких ресурса Републике Српске којег је усвојила Народна скупштина Републике Српске (Службени гласник РС, бр. 59/08). Као координационска институција, основан је Институт за генетичке ресурсе као организациона јединица Универзитета у Бањој Луци. Други дио прегледа литературе посвећен је ефектима молекуларних маркера за идентификацију гермплазме. Литературно проучавање је показало да молекуларни маркери представљају веома қорисно средство за идентификацију

гермплазме (Petrovičová et al., 2015; Savelyeva and Kudryavtsev, 2015; Kajkut et al., 2015; Wolf et al., 2017; Phougam et al., 2017; Sharifani et al., 2017; Huang et al., 2018; Eid, 2019, Dar et al., 2019; Li et al., 2019 ect.). SSR маркери су веома поуздана метода за молекуларну карактеризацију гермплазме крушке (Fernandez-Fernandez et al., 2006; Evans et al., 2009; Sehić et al., 2012; Stracieri et al., 2015; Bühlmann et al., 2015; Urrestarazu et al., 2015; Queiroz et al., 2015; Gašić et al., 2013; Öztürk and Demirsoy 2016; Yamamoto and Terakami, 2016). Још један веома важан аспект карактеризације гермплазме је морфо-помолошка карактеризација. Прије увођења молекуларних маркера, то је био једини начин за утврђивање особина гермплазме. У прошлости је спроведен велики број студија које су значајно доприњеле морфолошкој идентификацији гермплазме крушке широм свијета (Pereira-Lorenzo et al., 2012; Đurić et al., 2014; Đurić et al., 2015; Bayazit et al., 2016; Alizadeh et al., 2015; Ahmed et al., 2017; Kalkisim et al., 2018).

Коришћена литература:

1. Ahmed, M., Anjum, M.A., Hussain, S., Ejaz, S., Ahmad, A., Ercisli, S. (2017). Biodiversity in Indigenous Germplasm of Pyrus from Pakistan Based on Phenotypical and Morphological Traits. Erwerbs-Obstbau, 59: 19-27.
2. Andrić, S. (2019). Osjetljivost autohtonih gentipova kruške na kruškinu eriofidnu grinju (*Eriophyes Pyri*). Završni rad. Poljoprivredni fakultet Univerzitet u Banjoj Luci.
3. Alizadeh, K., Fatholahi, S., Teixeira da Silva, J. A. (2015). Variation in the fruit characteristics of local pear (*Pyrus spp.*) in Northwest of Iran. Genetic Resources and Crop Evolution, 62 (5): 635-641.
4. Al-Samarai, F. R., Al-Kazaz, A. A. (2015). Molecular markers: An Introduction and Applications. European Journal of Molecular Biotechnology, 9(3): 118-130.
5. Arif, I. A., Bakir, M. A., Khan, H .A., Al Farhan, A. H., Al Homaidan, A. A., Bahkali, A. H., Sadoon, M. A., Shobrak, M. (2010). A brief review of molecular techniques to assess plant diversity. International Journal of Molecular Sciences, 11: 2007-2096.
6. Bayazit, S., Caliskan, O., Sümbül, A. (2016). Morpho-pomological diversity of Turkish pear (*Pyrus communis L.*) accessions in eastern mediterranean region of Turkey. Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus, 15(5): 157-171.
7. Beširević, V. (2009). Autohtone jabuke i kruške sa prostora Bosne i Hercegovine. Hafo- Graf d.o.o Tuzla.
8. Bhargava, A., Fuentes, F. F. (2010). Mutational Dynamics of Microsatellites. Molecular Biotechnology. 44 (3): 250-266.
9. Brini, W., Mars, M., Hormaza, J. I. (2008). Genetic diversity in local Tunisian pears (*Pyrus communis L.*) studied with SSR markers. Scientia horticulturae, 115: 337-341.
10. Bühlmann, A., Gassmann, J., Ingenfeld, A., Hunziker, K., Kellerhals, M., Frey, J. E. (2015). Molecular Characterisation of the Swiss Fruit Genetic Resources. Erwerbs- Obstbau, 57(1): 29-34.
11. Carvalho, V. P., Ruas, C. F., Ferreira, J. M., Moreira, R. M. P., Ruas, M. P. (2004). Genetic diversity among maize (*Zea mays L.*) landraces assessed by RAPD markers. Genetics and Molecular Biology, 27 (2): 228-236.
12. Change, D., Vanderzande, S., Kirk, C., Profitt, N., Weskett, R., Gardiner, S. E., Peace,C. P., Volz, R. K., Bassil, N. V. (2019). Validation of SNP markers for fruit quality and disease resistance loci in apple (*Malus × domestica* Borkh.) using the OpenArray® platform. Horticulture Research, 6, 30.
13. Condit, R., Hubbell, S.P. (1991). Abundance and DNA sequence of two-base repeat regions in tropical tree genomes. Genome, 34: 66-71.
14. Dar, J. A., Wani, A. A., Dhar, M. K. (2019). Assessment of the Genetic Diversity of Apple (*Malus × domestica* Borkh.) Cultivars Grown in the Kashmir Valley using Microsatellite Markers. Journal of King Suad University-Science, 31(2): 194-201.
15. Demirsoy, L., Demir, T., Demirsoy, H., Kaçar, Y. A., Okumus, A. (2008). Identification of some sweet cherry cultivars grown in Amasya by RAPD markers. Acta Hortic, 795: 147-153.
16. Doyle, J.J., Doyle, J.L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus, 12(1): 13-15.
17. Đurić, G., Tomić, L., Radun, M., Pećanac, D. (2009a). Očuvanje i održivo korišćenje biljnih genetičkih resursa u Republici Srpskoj. Naučno stručni skup sa međunarodnim učešćem «Zaštita i zdravlje na radu i zaštita životne sredine», Banjaluka. Zbornik radova: 81-94.
18. Đurić, G., Tomić, L., Mićić, N., Cvetković, M., Radoš, Lj., Pašalić, B. (2009b). Fruit

- genetic resources in Republika Srpska. *Acta Agriculturae Serbica*, 15(28): 31-40.
19. Đurić, G., Mićić, N., Salkić, B. (2014). Evaluation of Pear (*Pyrus communis* L.) Germplasm Collected in Bosina and Herzegovina Using Some Pomological and Ecophysiological Characteristics. *Acta Hort*, 1032 ISHS: 105-115.
 20. Đurić, G., Lolić, B., Kajkut Zeljković, M., Delić, D., Koprivica, M., Radulović, M., Nikolić, P., Mićić, N., Erić, Ž. (2015). Sanitary Status of Pome and Stone Fruit Collection in Gene Bank in Republic of Srpska. *Agro-knowledge Journal*, 16 (1): 121-133.
 21. Đurić, G., Žabić, M., Rodić, M., Stanivuković, S., Bosančić, B., Pašalić, B. (2015). Biochemical and pomological assessment of European pear accessions from Bosnia and Herzegovina. *Horticultural Science (Prague)*, 42(4):176-184.
 22. Eid, M. (2019). RAPD fingerprinting and genetic relationships of some wheat genotypes. *International Journal of Genetics and Genomics*, 7(1): 1-11.
 23. Erfani-Moghadam, Zarei, A. (2018). Assessment of genetic structure among different pear species (*Pyrus* spp.) using apple-derived SSR and evidence of duplications in the pear genome. *Biotechnology & Biotechnological equipment*, 32(3): 591-601.
 24. Evans, K.M., Fernández- Fernández, F., Govan, F. (2009). Harmonising Fingerprinting Protocols to Allow Comparasion between Germplasm Collections – *Pyrus*. *Acta Hort*, 814: 103-105.
 25. Ferradini, N., Lancioni, H., Torricelli, R., Russi, L., Dalla Ragione, I., Cardinale, I., Macroni, G., Gramaccia, M., Concezzi, L., Achilli, A., Veronesi, F., Albertini, A. (2017). Characterization and phylogenetic analysis of ancient Italian landraces of pear. *Frontiers in Plant Science*, 8: 751.
 26. Fernández-Fernández, F., Harvey, N.G., James, C.M. (2006). Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers from European pear (*Pyrus communis* L.). *Molecular Ecology Notes*, 6: 1039-1041.
 27. Ferreira dos Santos, A. R., Ramos-Cabrer, A. M., Diaz- Hernández, B. Pereira-Lorenzo, S. (2011). Genetic variability and diversification process in local pear cultivars from northwestern Spain using microsatellites. *Tree Genetics & Genomes*, 7: 1041-1056.
 28. Food and Agricultural Organisation of United Nations (FAO). (1996). International Treaty on Plant Genetic Resources for Food and Agriculture. Rome, Italy.
 29. Food and Agricultural Organisation of United Nations (FAO). (1996). Global Plan of Action for the Conservation and Sustainable Utilization of Plant Genetic Resources for Food and Agriculture and Leipzig Declaration. Rome, Italy.
 30. Food and Agricultural Organisation of United Nations (FAO). (1998). The state of food and agriculture. ISBN 0081-4539. Rome, Italy.
 31. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2019). The state of the world's biodiversity for food and agriculture. Commission on genetic resources for food and agriculture, 329. Rome, Italy.
 32. Garkava-Gustavsson, L., Kolodinska Brantestam, A., Sehic, J., Nybom, H. (2008). Molecular characterisation of indigenous Swedish apple cultivars based on SSR and S- allele analysis. *Hereditas*, 145(3): 99-112.
 33. Garkava-Gustavsson, L., Mujaju, C., Sehic, J., Zborowska, A., Backes, G. M., Hietaranta, T., Antonius, K. (2013). Genetic diversity in Swedish and Finnish heirloom apple cultivars revealed with SSR markers. *Scientia Horticulturae*, 162: 43-48.
 34. Garkava-Gustavsson, L., Nybom, H. (2007). Genetic diversity in a collection of apple (*Malus x domestica* Borkh.) cultivars as revealed by RAPD markers. *International Journal of Horticultural Science*, 13(3): 25-35.
 35. Gaši, F., Kurtović, M., Kalamujić, B., Pojskić, N., Grahić, J., Kaiser, C., Meland, M. (2013a). Assessment of European pear (*Pyrus communis* L.) genetic resources in Bosnia and Herzegovina using microsatellite markers. *Scientia Horticulturae*, 157: 74-83.
 36. Gaši, F., Kurtović, M., Nikolić, D., Pejić, I. (2013b). *Genetika i oplemenjivanje jabuke*. Printcom, Tuzla, 164-171.
 37. Gaši, F., Šimon, S., Pojskić, N., Kurtović, M., Pejić, I., Meland, M., Kaiser, C. (2013c). Evaluation of Apple (*Malus xdomestica*) Genetic Resources in Bosnia and Herzegovina Using Microsatellite Markers. *HortScience*, 48: 13-21.
 38. Gomes, S., Castro, C., Barrias, S., Pereira, L., Jorge, P., Fernandes, J. R., Martins-Lopes, P. (2018). Alternative SNP detection platforms, HRM and biosensors, for varietal identification in *Vitis vinifera* L. using F3H and LDOXgenes. *Scientific Reports*, 8, 5850.
 39. Grover, A., Sharma, P. C. (2016). Development and use of molecular markers: past and present. *Crit Rev Biotech*, 36(2): 290-302.
 40. Giovannini, D., Punelli, F., Leone, A., Liverani, A., Ranieri, M., Faedi, W. (2011). Genetic diversity in ancient fruit tree germplasm from Southern Italy. *Acta Hort*, 918: 741-748.

41. Gower, J.C. (1971). A general coefficient of similarity and some of its properties. *Biometrics*, 27(4): 85-871.
42. Harlan, J. R., Martini, M. L. (1936). Problems and results in barley breeding. In *Yearbook of Agriculture*. Washington D.C., U.S. Department of Agriculture.
43. Huang, S., Sun, L., Hu, X., Wang, Y., Zhang, Y., Nevo, E., Peng, J., Sun, D. (2018). Associations of canopy leaf traits with SNP markers in durum wheat (*Triticum turgidum* L. *durum* (Desf.)). *Plos One*, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206226>.
44. Huq, M. A., Akter, S., Nou, I. S., Kim, H. T., Jung, Y. J., Kang, K. K. (2016). Identification of functional SNPs in genes and their effects on plant phenotypes. *Journal of Plant Biotechnology*, 43: 1-11.
45. Ilginm M., Kafkas, S., Ercisli, S. (2009). Molecular characterization of plum cultivars by AFLP markers. *Biotechnology&Biotechnological Equipment*, 23(2): 1189-1193.
46. Kajkut, M., Đurić, G., Mićić, N. (2015). Preliminary identification of pear accessions of "Lubeničarka" group using RAPD markers. *Europ. J. Hort. Sci.*, 80(3), 134-138.
47. Kalkisim, O., Okcu, Z., Karabulut, B., Ozdes, D., Duran, C. (2018). Evaluation of Pomological and Morphological Characteristics and Chemical Compositions of Local Pear Varieties (*Pyrus communis* L.) Grown in Gumushane, Turkey. *Erwerbs-Obstbau*, 60 (2):173-19181.
48. Khlestkina, E. K., Salina, E.A. (2006). SNP Markers: Methods of Analysis, Ways of Development and Comparison on an Example of Common Wheat. *Russian Journal of Genetics*, 42(6): 585-594.
49. Kolář, F., Čertner, M., Suda, J., Schönswetter, P., & Husband, B. C. (2017). Mixed-Ploidy Species: Progress and Opportunities in Polyploid Research. *Trends in Plant Science*, 22(12): 1041–1055.
50. Li, X., Singh, J., Qin, M., Li, S., Zhang, X., Zhang, M., Khan, A., Zhang, S., Wu, J. (2019). Development of an integrated 200K SNP genotyping array and application for genetic mapping, genome assembly improvement and genome wide association studies in pear (*Pyrus*). *Plant Biotechnology Journal*, 1-13. <https://doi.org/10.1111/pbi.13085>
51. Liu, Q., Song, L., Liu, L., Zhang, M., Sun, J., Zhang, S., Wu, J. (2015). Genetic diversity and population structure of pear (*Pyrus* spp.) collections revealed by a set core genome-wide SSR markers. *Tree Genetic&Genomes*, 11:128.
52. Liu, W., Li, S., Zhang, A., Liu, D. (2007). Genetic diversity revealed by RAPD markers in plum collection of China. *Acta Hortic*, 734: 287-294.
53. Loskutov, I. G. (1999). Vavilov and his institute. A history of the world collection of plant genetic resources in Russia. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
54. Makovics-Zsöhár, N., Tóth, M., Surányi, D., Kovács, S., Hegedűs, A., Halász, J. (2017). Simple Sequence Repeat Markers Reveal Hungarian Plum (*Prunus domestica* L.) Germplasm as a Valuable Gene Resource. *American Society for Horticultural Science*, 52(2): 1655-1660.
55. Mammadov, J., Aggarwal, R., Buyyarapu, R., Kumpatla, S. (2012). SNP Markers and Their Impact on Plant Breeding. *International journal of plant genomics*, 2012: 1-11.
56. Sharifani, M. M., Kimura, T., Yamamoto, T. Nishitani, C. (2017). Genetic Diversity of pear (*Pyrus* spp) Germplasm Assessed by Simple Sequence Repeat (SSR) and Morphological Traits. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 4 (2): 145-155.
57. Meier, U., Graf, H., Hack, H., Hess, M., Kennel, W., Klose, R., Mappes, D., Seipp, D., Stauss, R., Streif, J., Van Den Boom, T. (1994). Phänologische Entwick-lungsstadien des Kernobstes (*Malus domestica* Borkh. und *Pyrus communis* L.), des Steinobstes (*Prunus*-Arten), der Johannisbeere (*Ribes*-Arten) und der Erdbeere (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd*, 46, 141-153.
58. Meirmans, P., Liu, S., Tienderen, P. (2018). The Analysis of Polyploid Genetic Data – Invited Review. *Journal of Heredity*, 283–296, doi:10.1093/jhered/esy006.
59. Miranda, C., Urrestarazu, J., Santesteban, L.G., Royo, J.B., Urbina, V., (2010). Genetic diversity and structure in a collection of ancient Spanish pear cultivars assessed by microsatellite markers. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 135, 428–437.
60. Nadeem, M.A., Nawaz, M. A., Shahid, M. Q., Doğan, A., Comertpay, G., Yıldız, M., Hatipoğlu, R., Ahmad, F., Alsaleh, A., Labhane, N., Özkan, H., Chung, G., Baloch, F. S. (2017). DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 32:2, 261-285.
61. Öztürk, A., Demirsoy, L. (2016). Evaluation of relationships between pear genotypes from North Anatolia, Turkey using SSR markers. *Acta Hortic*, 1139.
62. Parida, S.K., Kalia, S.K., Sunita, K., Dalal, V., Hemaprabha, G., Selvi, A., Pandit, A., Singh, A., Gaikwad, K., Sharma, T.R., Srivastava, P.S., Singh, N.K., Mohapatra, T. (2009).

- Informative genomic microsatellite markers for efficient genotyping applications in sugarcane. *Theoretical and Applied Genetics*, 118:327-338.
63. Paunović, S. (1991). Banka gena voćaka Jugoslavije, Izvještaj. Agronomski fakultet Univerziteta u Kragujevcu.
 64. Peace C.P., Bianco L., Troggio M., Van de Weg, E., Howard N.P., Cornille A., Durel C.- E., Myles S., Migicovsky Z., Schaffer R., Costes E., Fazio G., Yamane H., van Nocker, S., Gottschalk, C., Costa, F., Chagné, D., Zhang, X., Patocchi, A., Gardiner, S.E., Hardner, C., Kumar, S., Laurens, F., Bucher, E., Main, D., Jung, S., Vanderzande S. (2019). Apple whole genome sequences: recent advances and new prospects. *Horticulture Research*, 6:59.
 65. Peakall, R., Smouse, P.E. (2006). GENEALEX 6 genetic analysis in Excel Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes*, 6, 288-295.
 66. Pereira-Lorenzo, S., Ferreira dos Santos, A.R., Ramos-Cabrer, A. M., Saub, F., Díaz-Hernández, M.B. (2012). Morphological variation in local pears from north-western Spain. *Sci Hort*, 138:176-182.
 67. Petrovičová, L., Gálová, Z., Balážová, Ž., Vivodík, M., Wójcik-Jagla, M., Rapacz, M. (2015). Assessment of RAPD polymorphism in rye (*Secale cereale* L.) genotypes. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Science*, 4: 94-97.
 68. Phouwat, D., Panwar, I. S., Punia, M. S., Sethi, S. K. (2017). Microsatellite markers based characterization in advance breeding lines and cultivars of bread wheat. *Journal of Environmental Biology*, 39: 339-346.
 69. Program očuvanja biljnih genetičkih resursa Republike Srpske (2009). Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede Republike Srpske. GrafoMark, Laktaši.
 70. Puskás, M., Höfer, M., Sestrás, R. E., Peil, A., Sestrás, A. F., Hanke, M. V., Flachowsky, H. (2015). Molecular and flow cytometric evaluation of pear (*Pyrus* L.) genetic resources of the German and Romanian national fruit collections. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 63(6). DOI 10.1007/s10722-015-0298-3.
 71. Rana, J. C., Chahota, R. K., Sharma, V., Rana, M., Verma, N., Verma, B., Sharma, T. R. (2015). Genetic diversity and structure of *Pyrus* accessions of Indian Himalayan region based on morphological and SSR markers. *Tree Genetics&Genomes*, 11:821.
 72. Savelyeva, N. A., Kudryavtsev, A. M. (2015). AFLP analysis of genetic diversity in the genus *Mallus* Mill. (Apple). *Russian Journal of Genetics*, 51(10): 966-973.
 73. Sciacca, F. F., Di Silvestro, C., Conte, S., Massimo, E. P. (2010). Genetic diversity of durum wheat as determined by AFLP in fluorescence. *Biologia Plantarum*, 54: 198-200.
 74. Sehic, J., Garkava-Gustavsson, L., Fernández-Fernández, F., Nybom, H. (2012). Genetic diversity in a collection of European pear (*Pyrus communis*) cultivars determined with SSR markers chosen by ECPGR. *Sci Hort*, 145: 39-45.
 75. Shannon, C. E. (1948). A mathematical theory of communication. *The Bell System Technical Journal*, 27(3): 379-423.
 76. Selamovska, A., Miskokska-Milevska, E., Najdenovska, O., Canev, I. (2015). Fruit characteristics of some traditional pear varieties in the Prespa region. *Acta Agriculturae Serbica*, 20(40); 107-115.
 77. Sokal, R. R., Sneath, P. H. A. (1963). Principles of Numerical Taxonomy. San Francisco:W. H. Freeman & Co.
 78. Stracieri, J., Magalhães, H. M., Resende, L. V., Carvalho, L. C. C. (2015). Simple sequence repeat (SSR) markers are effective for indentifying pear cultivars and selections. *African Journal of Biotechnology*, 14(2): 68-75.
 79. Szalatnay, D. (2006). Obst-Deskriptoren NAP – Descripteurs de Fruits PAN. Agroscope Changins-Wädenswil and Fructus, Wädenswil.
 80. Šiško, M., Javornik, B. (2007). Effectiveness of AFLP and SSR markers in determination of genetic relationships among pear (*Pyrus* spp.) genotypes. *Agricultura*, 5(1): 21-24.
 81. Tautz, D. (1989). Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Res*, 17(16): 6463-71.
 82. Terakami, S., Nishitani, C., Yamamoto, T. (2013). Development of SNP markers for marker-assisted selection in pear. *Acta Hortic*, 976: 463-469.
 83. Thibault, B., Watkins, R., Smith, R.A. (1983). Descriptor list for pear (*Pyrus*) CEC Secretariat, Brussels, IBPGR Secretariat, Rome.
 84. Urrestarazu, J., Royo, J.B., Santesteban, L. G., Miranda, C. (2015). Evaluating the Influence of the Microsatellite Marker Set on the Genetic Structure Inferred in *Pyrus communis* L. *PLoS One*, 10(9): e0138417.
 85. Vučković, B. (2017). Morfološka i genotipska karakterizacija kruške (*Pyrus communis* L.) lubeničarke u banjalučkom regionu. Magistarski rad, Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Banjoj Luci.

86. Vujanić-Varga, D., Ognjanov, V., Balaž, J., Macet, K., Krstič, M. (1994). Genetic resources in apple, pear and vineyard peach population in former Yugoslavia. *Euphitica*, 77: 155-159.
87. Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Van De Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., Zabeau, M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23: 4407-4414.
88. Zabeau, M., Vos, P. (1993). Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA fingerprinting. European Patent Application Number: 9270269.7, publication number: 0534858A1.
89. Zwet, V. D. T., Stankovic, D., Cociu, V. (1983). Collecting *Pyrus* Germplasm in Eastern Europe and its Significance to the USDA Pear Breeding Program. *Acta Hortic*, 140: 43- 45.
90. Yamamoto, T., Terakami, S. (2016). Genomics of pear and other Rosaceae fruit trees. *Breeding Science*, 66: 148-159. DOI: 10.1270/JSBBS.66.148
91. You, Q., Yang, X., Peng, Z., Xu, L., Wang, J. (2018). Development and Applications of a High Throughput Genotyping Tool for Polyploid Crops: Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Array. *Frontier in Plant Science*, 9: 104. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2018.00104>
92. Queiroz, A., Assunção, A., Ramadas, I., Viegas, W., Veloso, M.M. (2015). Molecular characterization of Portuguese pear landraces (*Pyrus communis* L.) using SSR markers. *Scientia Hort*, 183:72-76.
93. Wolf, J., Barankova, K., Nečas, T. (2017). AFLP Molecular Identification and Genetic Relationship of Chinese and Japanese Pear Cultivars Grown in Middle European Conditions. *Not Bot Horti Abrobo*, 45(2): 369-374.
94. Wolko, Ł., Bocianowski, J., Antkowiak, W., Ślomski, R. (2015). Genetic diversity and population structure of wild pear (*Pyrus pyraster* (L.) Burgsd.) in Poland. *Open Life Science*, 10: 19-29.
95. Weir, B.S., Cockerham, C.C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38: 1358-1370.
96. Weising, K., Nybom, H., Wolff, K., Kahl, G. (2005). DNA Fingerprinting in Plants. Taylor&Francis Group.
97. Welsh, J., McClelland, M. (1990). Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucl. Acid Res.* 18: 7213-7218.
98. Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A., Tingey, S.V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18(22): 6531-6535.
99. <https://www.bioversityinternational.org/e-library/publications/descriptors/> (učitano 11.01.2019).
100. <https://www.cbd.int/doc/legal/cbd-en.pdf> (učitano 17.02. 2019.).
101. <https://softgenetics.com/downloads.php> (učitano 15.02.2019.).
102. <http://www.fao.org/3/i2624e/i2624e00.pdf> (učitano 18.03.2019.).
103. <https://imagej.net/ImageJ/> (učitano 14.04.2019.).
104. <http://www.ecpgr.cgiar.org/> (učitano 15.04.2019.).
105. <https://www.cbd.int/abs/about/> (učitano 16.04.2019.).
106. <https://www.eucarpia.org/> (učitano 16.04.2019.).
- 3) Ова дисертација је потврдила да молекуларна и морфолошка карактеризација, као и фенолошка опажања и помоловске анализе омогућавају утврђивање идентитета принова у БиХ колекцији крушке. Идентификација путем молекуларног профилисања омогућила је утврђивање дупликата у БиХ колекцији крушке и утврдила је принове са јединственим молекуларним профилима. Поређењем добијених микросателитних профилова анализираних принова крушке са профилима принова крушке из других међународних колекција банака гена потврђена је аутотона гермплазма крушке у БиХ.
- 4) Ова дисертација је дала допринос у научним аспектима, јер добијени резултати представљају прве податке за морфо-помоловске, фенолошке и молекуларне анализе за БиХ гермплазму крушке. Након карактеризације, уникатне принове су одвојене од дупликатних. Уникатне принове БиХ гермплазме крушке упоређивање су са подацима из других база података, а добијени резултати су показали висок ниво полиморфизма испитиване гермплазме. Уникатне принове БиХ крушке ће бити предложене за Сортну лису Републике Српске и БиХ. Осим тога, добијени резултати ће помоћи произвођачима, потрошачима и банци гена да имају податке о морфо-помоловским карактеристикама БиХ гермплазме крушке. Принове са позитивним агрономским својствима ће бити усмјерене у

производњу и оплемењивачке програме.

- 1) Укратко истаћи разлог због којих су истраживања предузета и представити проблем, предмет, циљеве и хипотезе;
- 2) На основу прегледа литературе сажето приказати резултате претходних истраживања у вези проблема који је истраживан (водити рачуна да обухвата најновија и најзначајнија сазнања из те области код нас и у свијету);
- 3) Навести допринос тезе у рјешавању изучаваног предмета истраживања;
- 4) Навести очекиване научне и прагматичне доприносе дисертације.

V МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

- 1) *Ex situ* колекција воћака Института за генетичке ресурсе је подигнута 2013 године. Принове су колекционисане широм БиХ. Поред принова крушке, у колекцији су присутне принове: јабуке, шљиве и трешње. Од 74 анализираних принове крушке у овом истраживању, 67 принова је из колекција воћака Института за генетичке ресурсе Универзитета у Бањој Луци. Седам референтних сорти је коришћено из *ex situ* колекције Балсгард за молекуларне анализе које су извршене у Одјељењу за оплемењивање Шведског Универзитета пољопривредних наука (СЛУ). Референтне сорте су коришћене само за молекуларне анализе док је за молекуларну и морфолошку карактеризацију коришћено 67 принова крушке из БиХ колекције. Млади листови су узорковани са 67 принова из БиХ колекције крушке. ДНК од 67 узорака је изолована из свежег ткива у Лабораторији за молекуларну генетику Института за генетичке ресурсе коришћењем модификованих СТАВ екстракционог протокола (Doyle и Doyle, 1990). ДНК референтних сорти изолована је у Одјељењу за оплемењивање биљака СЛУ-Алнарп из листова сакупљених у *ex situ* колекцији Балсгард. Количина и квалитет ДНК су мјерени у 1 µl сваког узорка са спектрофотометром (ND-1000, ThermoFisher Scientific, USA) према стандардној процедуре. Амплификација ДНК фрагмената је изведена употребом PCR-а са десет флуоресцентно означених SSR праймера препоручених од стране ECPGR (Evans et al., 2009; Sehic et al., 2012.). Укупна запремина PCR реакције износила је 18 µl од чега је 10 × PCR пuffer који је садржавао 20 mM MgCl₂, 10 mM dNTP, 0.25 U Taq полимеразе, 10 ng DNA, и 0.8 µl сваког праймера (10µM). Амплификација SSR алела је вршена на следећи начин: 94 °C на 5 мин, 10×(94 °C на 30 сек, 55–50 °C (−0.5 °C/циклус) на 45 сек, 72°C на 60 сек), 25× (94 °C на 30 сек, 50 °C на 45 сек, 72 °C на 60 сек), 72 °C на 15 мин. Амплификација микросателитских секвенција је извршена у Mastercycler epgradient S (Eppendorf, Хамбург, Њемачка). Да би се верификовала успешна амплификација, PCR производи су прво раздвојени електрофорезом на 2% агарозном гелу у 1xTBE пufferу и обојени са GelRedTM (Biotium, Fremont, CA USA). Визуализација амплификованых фрагмената извршена је помоћу UV светла уз помоћ трансилуминатора (Saveen Werner AB konsortiet, Limhamn, Sweden). У следећем кораку, PCR производи су мултиплковани у следећим комбинацијама: CH01d08 (NED), CH01d09 (VIC), CH03d12 (6-FAM); CH05c06 (6-FAM), EMPc117 (VIC), GD147 (PET) и EMPc11 (NED), CH04e03 (PET), CH03g07 (6-FAM), CH01f07a (VIC). Мултиплковани производи су одвојени и анализирани помоћу генетичког анализатора серије 3500 (Thermo Scientific, Waltham, MA USA) са осам капилара. Поред екстракције ДНК, сви остали кораци молекуларне карактеризације помоћу SSR маркера су извршени у Одјељењу за оплемењивање биљака Шведског Универзитета пољопривредних наука.
- 2)
 - 1) Примјењене методе су адекватне, тачне и ажуарне. Резултати су јасно приказани.
 - 2) Није било одступања од предложеног плана истраживања.

- 3) Истражени параметри дају довољно елемената за доношење научно утемељених закључака.
- 4) Статистичка обрада података је била адекватна.
- 1) Објаснити материјал који је обрађиван, критеријуме који су узети у обзор за избор материјала;
- 2) Дати кратак увид у примијењени метод истраживања при чему је важно оцијенити сљедеће:
1. Да ли су примијењене методе истраживања адекватне, довољно тачне и савремене, имајући у виду достигнућа на том пољу у свјетским нивоима;
 2. Да ли је дошло до промјене у односу на план истраживања који је дат приликом пријаве докторске тезе, ако јесте зашто;
 3. Да ли испитивани параметри дају довољно елемената или је требало испитивати још неке, за поуздано истраживање;
 4. Да ли је статистичка обрада података адекватна.

VI РЕЗУЛТАТИ И НАУЧНИ ДОПРИНОС ИСТРАЖИВАЊА

- 1) У овом истраживању, гермплазма крушке је показала висок ниво полиморфизма. Само 6 група принова је имало коефицијент сличности 1,0. Од тога, три представљају дупликате, а 3 представљају синониме. Такође су идентификовани и хомоними, тј. њих седам. Користећи анализу главних компоненти (РСоА) прве двије димензије су објасниле 20,99% варијација, такође су показале груписање принова крушке у три групе. Прву групу чини већи део принова груписаних заједно са референтним сортама. У другу групу спадају искључиво принове крушке из БиХ, синоними, дупликати и једна уникатна принова. Трећу групу чине 4 принове са сличним именима, али све оне имају уникатне генетичке профиле. Друга и трећа група су удаљене од прве групе и ове двије групе не садрже референтне сорте. Сви подаци добијени за сљедеће карактеристике: маса плода, релативна величина плода (дужина плода и ширина плода), дужина петељке, ширина петељке, садржај растворљиве суве материје у ћелијском соку меса плода, чврстоћа плода, дужина и ширина листа, дужина и ширина листне петељке и површина листа коришћени су за анализу главних компоненти. По анализи главних компоненти груписање узорака крушке анализирано је у складу са морфолошким карактеристикама. Присутне су 4 различите групе које представљају различитост у својим морфо-помолошким карактеристикама: група са израженијим особинама плода, група са израженијим особинама листа, група са мање израженим карактеристикама листа и плода и група генотипова релативно сличних и не нарочито изражених у односу на измјерене карактеристике. Током ове студије, морфо-помолошке карактеристике плодова су анализиране само за 30 принова крушке које су плодоносиле током испитиваног периода. Према томе, морфо-помолошке карактеристике су упоређене са резултатима SSR анализа. Према добијеним резултатима SSR анализе 67 принова крушке идентификована су три дупликата и 3 синонима. Од тога, дупликатне принове ПКБ-К-41 (Дуплагица) и ПКБ-К-143 (Дуплагица) су плодоносиле. Синоними који су плодоносили су ПКБ-К-18 (Јагодњача) - ПКБ-К-19 (Кантаруша) и ПКБ-К-29 (Сарајка) - ПКБ-К-31 (Саревка). Поредећи морфо-помолошке карактеристике дупликата и синонима принова крушака из БИХ, принове ПКБ-К-41 (Дуплагица) и ПКБ-К-143 (Дуплагица) су имале исте карактеристике плода, осим чврстоће плода. То доводи до закључка да су оне морфолошки и генетички исте и да представљају дупликатне принове у *ex situ* колекцији крушке. Други синоними нису имали сличне карактеристике плода, и без обзира на генетичку сличност, не могу се навести као дупликати у колекцији. Ако се упореди груписање по морфо-помолошким и молекуларним карактеристикама, њихово међусобно поклапање не постоји осим за једну дупликатну принову (ПКБ-К-41 Дуплагица / ПКБ-К-143 Дуплагица). Поред утврђивања генетичке разноврсности у БиХ колекцији крушке, један од циљева је био да се добијени SSR подаци упореде са SSR

подацима других банака гена. Gaši et al. (2013a) су извршили карактеризацију 55 принова крушке из БиХ са SSR маркерима са двије различите локације, из *ex situ* колекције у Сребренику и принова прикупљених из окућнице у Сарајевском региону. Из стандардног сета ECPGR SSR локуса за скрининг крушке, коришћено је само пет локуса (CH01f07a, CH01d09, CH04e03, EMPc11, and EMPc117) које су коришћени у овом истраживању. На основу тога, упоређени су подаци са подацима добијеним од Gaši et al. (2013a) коришћењем SM коефицијента. Према коефицијенту сличности, није било принова које су имале коефицијент сличности 1.0. Највећи коефицијент сличности између ове двије студије био је 0,94 (ПКБ-К-139 Уруменка/Шећерка), док је најнижи коефицијент сличности био 0,76 (ПКБ-К-13 Аврашка/Зимњача). Између ове две студије нема дупликатних принова, што указује на то да гермплазма крушке у БиХ представља веома различит генетички базен. Добијени SSR подаци из ове студије су такође поређени са SSR подацима из Бргдејл колекције (Велика Британија). У својој бази података налази се SSR подаци за 553 принове крушке који су описани са 10 истих SSR прајмера који су коришћени и у овом истраживању. Користећи једноставни коефицијент подударања, добијени подаци из ове студије су упоређени са подацима из Бргдејл колекције. Коефицијент генетичке сличности између поређених података је био од 0,83 до 1,0. Најнижи коефицијент генетичке сличности забиљежен је између принова ПКБ-К-220 Медњака /Тама. Коефицијент сличности 1.0 имале су следеће принове: ПКБ-К-16 (Хошија)/Coscia_Prescoce, ПКБ-К-141 (Измирска)/Willams, ПКБ-К-141 (Измирска)/Nye_Russet_Bartlett и ПКБ-К-141 (Измирска) /Parburton. Ови резултати указују да су само двије принове из БиХ колекције имале исти коефицијент сличности са приновама из колекције Бргдејл. У складу са подацима добијеним упоређивањем са другим базама података, гермплазма БиХ крушке представља веома вриједан и јединствен генетички материјал.

Морфо-помолошке карактеристике принова крушке из овог истраживања су веома важне за банку гена, за производњаче и за потрошаче. Вријеме бербе, садржај шећера, однос шећера и киселина, основна боја и чврстоћа плода су карактеристике за које се опредјељују корисници стarih сортти. Ове сорте користе се првенствено за малу производњу (сушене крушке за компоте и чај, прераду у ракији, цем итд.) и за локално тржиште. Стога је одређивање морфо-помолошких карактеристика плодова ових сортти веома важно у смислу њиховог одрживог коришћења и враћања у производњу. Други, не мање важан разлог за евалуацију ових сортти је њихова прилагодљивост новим условима са евидентним климатским промјенама и појавом штетних организама. Евалуација ових сортти у смислу толеранције на биотичке и абиотичке факторе је takoђе неопходна због увођења одговарајућих сортти у оплемењивачке програме. Међутим, ако ове сорте нису од посебног интереса за производњаче због својих морфо-помолошких карактеристика, веома је тешко одржавати та стабла у животу. Једини начин одржавања ових сортти је у *ex situ* колекцији које је познато као скupo и са ограниченим капацитетима. У протеклих неколико година уочена је повећана садња гермплазме крушке. Како је локално становништво веома заинтересовано за морфолошке карактеристике, ови резултати ће допринијети побољшању производње и ширењу гермплазме крушке широм БиХ.

- 2) Резултати су јасно представљени, критички анализирани и адекватно интерпретирани. Налази истраживања налазе се у контексту објављене литературе која се односи на предмет. Кандидат је јасно објаснио како су добијени резултати помјерили поље и значај добијених резултата са научног и практичног становишта.

3) Главни резултати и научни доприноси дисертације су:

- Карактеризација гермплазме крушке на фенолошком, морфо-помолошком и молекуларном нивоу представља први корак у процесу евалуације гермплазме воћака. Према добијеним подацима донесени су сљедећи закључци:
- БиХ је врло богата гермплазмом крушке;
- Висока молекуларна разноврсност је потврђена у *ex situ* колекцији БиХ крушке;
- Висока морфо-помолошка разноврсности је потврђена у *ex situ* колекцији БиХ крушке;
- Поређењем молекуларних података са подацима из Бргдејл колекције и података из студије Gaši et al., (2013a) потврђен је висок ниво полиморфизма на молекуларном нивоу БиХ колекције крушке. Нису утврђене дупликатне принове између овог и истраживања Gaši et al., (2013a) Идентификоване су само дије дупликатне принове између БиХ и Бргдејл колекције (ПКБ-К-16 (Хошија) / Coscia_Precoce и ПКБ-К-41 Измирска /Williams/Nye_Russet_Bartlett /Parburton).
- Принове које су упоређене на морфолошком и молекуларном нивоу, и на молекуларном нивоу са другом базом података и које су показале јединствене профиле ће бити предложене за упис у Сортну листу Републике Српске и БиХ;
- Овим истраживањем добијени су први комплетни резултати за морфо-помолошку и молекуларну карактеризацију БиХ гермплазме крушке. Према томе, веома је важно наставити са процесом евалуације принова крушке како би се утврдиле позитивне агрономске особине за будуће оплемењивачке програме.

- 1) Укратко навести резултате до којих је кандидат дошао;
- 2) Оцијенити да ли су добијени резултати јасно приказани, правилно, логично и јасно тумачени, упоређујући са резултатима других аутора и да ли је кандидат при томе испољавао довољно критичности;
- 3) Посебно је важно истаћи до којих нових сазнања се дошло у истраживању, који је њихов теоријски и практични допринос, као и који нови истраживачки задаци се на основу њих могу утврдити или назирати.

VII ЗАКЉУЧАК И ПРИЈЕДЛОГ

- 1) Дисертација Миреле Кајкут Зељковић, mr посвећена је карактеризацији гермплазме крушке у БИХ. Према добијеним подацима изведен су сљедећи закључци: БиХ је врло богата гермплазмом крушке; висока молекуларна и морфо-помолошка разноврсност је потврђена у *ex situ* БиХ колекцији крушке; поређењем молекуларних података са подацима из других банака гена потврђен је висок ниво полиморфизма БиХ колекције крушке; Принове који имају јединствене профиле ће бити предложене за упис у Сортну листу Републике Српске и БиХ. Ово истраживање је неопходан корак у циљу идентификације дупликатних принова и издавање уникатних принова. Уникатне принове ће бити предмет процеса евалуације како би се идентификовале позитивне агрономске особине за директну употребу или за оплемењивачке програме. Дисертација је јасно написана и добро документована. Хипотеза и аргументи су добро формулисани. Резултати су јасни и правилно презентовани. Закључак потврђује да је формирани циљ успјешно испуњен. Дисертација представља високи или оригинални научни рад. Укључен је широк спектар рада. Он отвара нове увиде у морфо-помолошку и молекуларну карактеризацију гермплазме крушке у Босни и Херцеговини. Урађена дисертација испуњава све захтјеве постављене за израду докторског рада.

- 2) Чланови комисије за дисертацију једногласно предлажу Наставно-научном вијећу Пољопривредног факултета:
- да прихвати докторску дисертацију и стави је у даљу процедуру Сенату Универзитета у Бањој Луци да одобри одбрану кандидату.
- 1) Навести најзначајније чињенице што тези даје научну вриједност, ако исте постоје дати позитивну вриједност самој тези;
- 2) На основу укупне оцене дисертације комисија предлаже:
- да се докторска дисертација прихвати, а кандидату одобри одбрана,
 - да се докторска дисертација враћа кандидату на дораду (да се допуни или измијени) или
 - да се докторска дисертација одбија.

Мјесто и датум: Скопје –Алнарп –Хале-Витенберг – Бања Лука, 22.05.2019.

ПОТПИС ЧЛНОВА КОМИСИЈЕ

1. Др Соња Ивановска,
редовни професор Факултета за пољопривредне науке и храну
Универзитета Св. Ћирила и Методија у Скопју, Северна
Македонија; ужа научна област: Генетика и оплемењивање биљака,
Конзервација и одржива употреба генетичких ресурса, предсједник

2. Др Гордана Ђурић,
редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у
Бањој Луци, Босна и Херцеговина, ужа научне области:
Хортинклтура и Очување генетичких ресурса, ментор, члан

3. Др Лариса Густавсон,
доцент Шведског универзитета пољопривредних наука, Шведска,
ужа научна област: Генетика и оплемењивање биљака, члан

4. Др Хенрик Флаховски,
ванредни професор Мартин Лутер Универзитета (МЛУ), Хале-
Витенберг, Њемачка, ужа научна област: Генетика и оплемењивање
биљака

5. Др Борис Пашићић,
ванредни професор Пољопривредног факултета Универзитета у
Бањој Луци, Босна и Херцеговина, ужа научна област:
хортинклтура, члан

ИЗДВОЕНО МИШЉЕЊЕ: Члан комисије који не жели да потпише извјештај јер се не слаже са мишљењем већине чланова комисије, дужан је да унесе у извјештај образложење, односно разлог због којих не жели да потпише извјештај.

Изјава 1

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем
да је докторска дисертација

Наслов рада Карактеризација гермплазме крушке (*Pyrus communis L.*) у Босни и Херцеговини

Наслов рада на енглеском језику Characterization of pear germplasm (*Pyrus communis L.*) in Bosnia and Herzegovina

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да докторска дисертација, у цјелини или у дијеловима, није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанта

У Бањој Луци, дана 02.09.2019. године

Иван Весковић

Изјава 2

Изјава којом се овлашћује Универзитет у Бањој Луци да докторску дисертацију учини јавно доступном

Овлашћујем Универзитет у Бањој Луци да моју докторску дисертацију под насловом

Карактеризација гермплазме крушке (*Pyrus communis L.*) у Босни и Херцеговини-
Characterization of pear germplasm (*Pyrus communis L.*) in Bosnia and Herzegovina

која је моје ауторско дјело, учини јавно доступном.

Докторску дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату
погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у дигитални репозиторијум Универзитета у
Бањој Луци могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце
Креативне заједнице (*Creative Commons*) за коју сам се одлучио/ла.

- Ауторство
- Ауторство – некомерцијално
- Ауторство – некомерцијално – без прераде
- Ауторство – некомерцијално – дијелити под истим условима
- Ауторство – без прераде
- Ауторство – дијелити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци
дат је на полеђини листа).

Потпис докторанта

У Бањој Луци, дана 02.09.2019. године



Изјава 3

Изјава о идентичности штампане и електронске верзије докторске дисертације

Име и презиме аутора Мирела Кајкут Зељковић

Наслов рада Карактеризација гермплазме крушке (*Pyrus communis L.*) у Босни и Херцеговини – Characterization of pear germplasm (*Pyrus communis L.*) in Bosnia and Herzegovina

Ментор Проф. др Гордана Ђурић

Изјављујем да је штампана верзија моје докторске дисертације идентична електронској верзији коју сам предао/ла за дигитални репозиторијум Универзитета у Бањој Луци.

Потпис докторанта

У Бањој Луци, дана 02.09.2019. године

